

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Leitende Ärztin: Professor Dr. med. I. Boll)

**Die Wirkung von Serum
bei chronischer myelo-monocytärer
Leukämie
auf menschliches Knochenmark in vitro
dargestellt am Pappenheim-Präparat
und mit der unspezifischen
Esterase-Reaktion**

1978

**Dissertation
zur**

**Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Zahnarzt Hans-Jürgen Karl
aus Berlin**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln

(Leitende Ärztin: Professor Dr. med. I. Boll)

Die Wirkung von Serum
bei chronischer myelo-monocytärer Leukämie
auf menschliches Knochenmark in vitro dargestellt
am Pappenheim-Präparat und mit der unspezifischen
Esterase-Reaktion

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Hans-Jürgen Karl
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. I. Boll

Korreferent: Professor Dr. med. H. Michel

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 18.11.1978

I N H A L T

Einleitung	Seite	5
Fragestellung	Seite	9
Methodik	Seite	11
Ergebnisse	Seite	20
Diskussion	Seite	67
Zusammenfassung	Seite	71
Literaturverzeichnis	Seite	72

E I N L E I T U N G

Die chronische monocytäre Leukämie ist eine Variante der chronischen myeloischen Leukämie und wird daher auch als myelo-monocytäre Form bezeichnet (WINTROBE, 1974). Es handelt sich dabei um eine maligne Vermehrung aller weißen Zellen vom Myeloblasten bis zum Segmentkernigen, sowie auch der Monocyten. Der klinische Befund zeigt Haut- und Schleimhautblutungen und -infiltrate vor allem im oropharyngealen Bereich, Splenomegalie und gelegentlich Lymphknotenschwellungen.

RESCHAD und SCHILLING berichteten 1913 erstmals von einem Fall monocytärer Leukämie. Seit dieser Zeit führte man Diskussionen über die eigentliche Herkunft der Monocyten, die jedoch zu keiner Einigung führten. So standen bislang drei Formen nebeneinander: die myeloische Monocytenleukämie (Typ NAEGLI) mit dem Knochenmark als Ursprungsort, die retikuläre Monocytenleukämie (Typ SCHILLING) mit dem Retikulo-Endothelialen-System (RES) als Ursprungsort und die Mischform aus beiden genannten (Typ HITTMAIR). Erst in den letzten Jahren ist mit Hilfe cytokinetischer und enzymhistochemischer Untersuchungsmethoden die Aufklärungsarbeit soweit gediehen, daß die Entstehung der Monocyten aus spezifischen, im Knochenmark lokalisierten Vorläuferzellen als bewiesen gilt (v.FURTH, 1970; MEURET, 1976). Das zeigt von welcher Wichtigkeit die histochemische Arbeitsweise ist, mit der die Fermentreaktionen in den Zellen genau lokalisiert und sichtbar gemacht werden können. Dieser Vorgang verläuft nach folgendem Schema:

Die Präparate mit den Gewebeschnitten werden in eine geeignete Substratlösung eingebracht, wobei am Ort der Enzymaktivität in der Zelle ein Spaltprodukt entsteht. Dieses ist entweder schon selbst gefärbt oder kann in eine gefärbte Verbindung überführt werden und wird so

unter dem Mikroskop sichtbar. Zwar lassen sich mit Hilfe dieser Reaktion nur die Desmoenzyme darstellen, da sie fest in der Zelle verankert sind; die Lyoenzyme hingegen werden nicht sichtbar, weil sie aus dem Präparat in die Inkubationslösung diffundieren. Da die Lyoenzyme jedoch nur einen sehr geringen Anteil der Desmoenzyme darstellen, ist ihre Abwesenheit im Präparat für die Untersuchungen nicht gravierend (KRAUT und WEISCHER, 1951; EDER, 1958).

Die als unspezifische Esterase bezeichnete Fermentgruppe ist in der Lage, verschiedene Substrate (z.B. alpha-Naphthylacetat, Naphtol-AS-Acetat und Naphtol-AS-D-Chloracetat) als Azofarbstoff zu spalten (GÖSSNER, 1958). Mit einem Azofarbstoffverfahren ist es NACHLAS und Mitarbeiter (1949), ebenfalls WACHSTEIN und WOLF (1958) gelungen, erstmals die unspezifische Esteraseaktivität nachzuweisen; FISCHER und SCHMALZL (1964), sowie SCHMALZL und BRAUNSTEINER (1968) zeigen in Ihren Untersuchungen, daß bei Monocyten diese Aktivität durch Natriumfluorid hemmbar ist.

Die unspezifischen Esterase gehört der Gruppe der hydrolytischen Enzyme an und besitzt große Bedeutung bei der Differentialdiagnose der unreifzelligen Leukämie (LÖFFLER, 1963; KAHN, 1965). Insbesondere dient sie zur Diagnostik der Monocytenleukämien. Monocyten und deren Vorstufen haben eine starke Enzymaktivität und sind darum deutlich im Fermentpräparat erkennbar. Schwieriger sind sie im Pappenheimpräparat abzugrenzen, weil sie den Myelocyten und Metamyelocyten der Granulopoese ähneln. In der unspezifischen Esterasereaktion mit dem Substrat alpha-Naphthylacetat weisen die gewucherten Zellen eine Aktivität auf, welche die Intensitäten der Zellen anderer Leukosetypen nicht erreichen. Auch LEDER (1967) empfiehlt dieses Substrat als zuverlässige diagnostische Hilfe zur Erkennung von Promonocyten. Durch Kernfärbung mit

Hämalaun können bei dieser Reaktion alle Zellen leicht differenziert werden. Vor allem aber in den monocytären Zellen entsteht ein besonders starkes Spaltprodukt. Dieses Produkt wird unter dem Mikroskop in Form eines Farbstoffniederschlages als Granula im Cytoplasma der Zellen sichtbar, wobei der Kern meist frei bleibt, bei großer Aktivität jedoch auch überlagert ist. Die morphologischen Merkmale der Zellen bleiben erhalten. Die Stärke der Esteraseaktivität ist durch einen Index gekennzeichnet, der für jede Zellart berechnet wird (KAPLOW, 1955; ROZENSZAJN, 1963; SCHARIOT, 1969; BOLL und SCHARIOT, 1970). Neben der nanoptischen Färbemethode nach Pappenheim bietet die unspezifische Esterasereaktion mit alpha-Naphthylacetat für die klinische Diagnostik wichtige Aufschlüsse. Dabei sind die Zusammenhänge zwischen Veränderungen des Enzymverteilungsmusters und Erkrankungen des hämapoetischen Systems von großer Bedeutung.

Im Knochenmark von Patienten mit Hepatitis infektiosa und mit Coxsackiepnemonie, als typische Virusinfektionen, zeigt sich im Vergleich mit nicht infiziertem Knochenmark eine reaktive Vermehrung der Monocyten (RAFTOPOULIO, 1975), das Enzymverteilungsmuster bleibt unverändert. Auch bei Lymphogranulomatose tritt im Knochenmark eine Vermehrung der monocytären Vorstufen auf (BOLL, 1973).

In der vorliegenden Arbeit wird das Verhalten des normalen menschlichen Knochenmarks nach Zusatz von Seren bei chronischer myelo-monocytärer Leukämie untersucht. Mit dem Seruzusatz von infektiöser Mononukleose (SEIFERT, 1975) wird bei einer Inkubationsdauer von 72 Stunden eine signifikante Vermehrung der monocytären Vorstufen im nicht erkrankten Knochenmark sichtbar. Ebenso wurde durch Seruzusatz einer chronischen Monocytenleukämie zu Kulturen von normalem Knochenmark mit der Pappenheimfärbung eine signifikante Vermehrung der monocytären Zellen aufgezeigt.

(NIEDERDRÄING, Dissertation im Druck). Es soll nun in dieser Untersuchung das Ergebnis durch die unspezifische Esterasereaktion gesichert werden. Da jedoch das in der Dissertation von NIEDERDRÄING verwendete Serum nicht mehr zur Verfügung stand, sind die Versuche mit Seren von zwei anderen Patienten durchgeführt worden, die an chronischer myelo-monocytärer Leukämie erkrankt waren. Es ist nunmehr festzustellen, ob diese Seren ebenfalls eine Vermehrung der monocytären Zellen in der Knochenmarkkultur verursachen, wie es das Serum einer chronischen Monocytenleukämie bewirkte, und ob diese Veränderungen durch die unspezifische Esterasereaktion bestätigt werden können.

I N T R O D U K T I O N

Gegenstand dieser Untersuchung ist die Frage: Wie wirken sich Seren bei chronischen myelo-monocytären Leukämien auf normales menschliches Knochenmark aus? Seitdem immer subtilere histochemische Untersuchungsmethoden zur Verfügung stehen, sind sie für die Lösung spezifischer Probleme in der klinischen Hämatologie eine große Hilfe. Zu wertvollen Ergebnissen führt jedoch erst die Synopsis von konventioneller Cytomorphologie und histochemischem Befund. Die klinischen Symptome wie z.B. Gingivitis, Splenomegalie, Lymphknotenschwellungen gehören nicht zum Thema dieser Arbeit.

In der Bearbeitung der gestellten Aufgabe wird in folgender Weise vorgegangen:

- A) mit Hilfe der panoptischen Färbemethode nach Pappenheim
- B) mit Hilfe der histochemischen Färbemethode durch die unspezifische Esterasereaktion mit dem löslichen Substrat alpha-Naphthylacetat nach LÖFFLER (1961) und Kernfärbung mit Mayers Hämalaun

Die Wirkung der Seren soll an Knochenmarkkulturen dargestellt werden, die über 72 Stunden angelegt waren und an Kontrollen im autologen Serum. Es haben Patienten zur Verfügung gestanden, die als hämatologische Normalfälle gelten.

Bei den mit der unspezifischen Esterase gefärbten Präparaten wird zur Darstellung der Enzymaktivität in den Knochenmarkzellen ein Indexwert nach einem Verfahren berechnet, das von KAPLOW (1955) und ROZENSZAJN (1963) für

die alkalische Phosphatase eingebracht worden ist. Später ist diese Methode von SCHARIOT (1969) und BOLL und SCHARIOT (1970) weiterentwickelt worden, um deren Versuche mit eigenen Ergebnissen vergleichen zu können. Ferner wird die Proliferation der Knochenmarkzellen nach Differential- und Mitosezählungen bis zu 72 Kulturstunden berechnet, als Indices und Kurven dargestellt und auf Signifikanz untersucht.

M E T H O D I K

Das Knochenmark der hämatologisch gesunden Patienten wird durch Sternalpunktion gewonnen. Von dem Punktat wird ein Teil auf Objektträger ausgestrichen, luftgetrocknet, danach A) nach Pappenheim und B) nach der Esterasereaktion mit alpha-Naphthylacetat angefärbt. Diese so gewonnenen Originalpräparate bieten die Grundlage für die Beurteilung der Zellveränderungen.

Vom gleichen Mark des jeweiligen Patienten werden dann Kulturen nach der von BOLL (1961) modifizierte CARREL'schen Deckglasmethode angelegt. In einem durch UV-Bestrahlung keimfrei gehaltenen Raum gibt man unter strengen sterilen Kautelen 5 Tropfen autologes Plasma, das man durch Sedimentation in eisgekühlten, silikonisierten Röhrchen gewonnen hat, 1 Tropfen Corhormon[®] dreifach verstärkt und 4 Tropfen Serum auf ein Deckglas, auf dem ein Koagulum entsteht. Darauf setzt man ein Knochenmarkbröckel und einen Tropfen Serum, damit die Zellen nicht austrocknen. Nun wird die Kultur mit einem Hohlschliffobjektträger und durch das Erhitzen von verflüssigtem Hartparaffin luftdicht verschlossen. Anschließend erfolgt das Einstellen in den Brutschrank bei 37 Grad Celsius über 72 Stunden. Man fertigt von jedem Sternalpunktat drei Serien von Kulturen an:

1. Kontrollkulturen mit 4 Tropfen Eigenserum als Zusatz
2. Kulturen mit 4 Tropfen Serum eines an chronischer myelo-monocytärer Leukämie Erkrankten
3. Kulturen mit 4 Tropfen Serum eines anderen an chronischer myelo-monocytärer Leukämie Erkrankten

Nach 24, 48 und 72 Stunden Bebrütungszeit werden Ausstriche

angefertigt, ebenso wie die Originalausstriche luftgetrocknet und nach Pappenheim, sowie durch die Esterase-reaktion mit alpha-Naphthylacetat je in einer Serie zusammen mit dem Originalpräparat gefärbt.

A) Pappenheimfärbung:

- a) möglichst 1 Tag lufttrocknen
- b) 3 Minuten May-Grünwald überschichten
- c) abspülen mit Aqua dest.
- d) 6 Minuten Giemsa-Lösung 1:5 in Aqua dest. oder in Phosphatpuffer überschichten
- e) abspülen in Aqua dest.
- f) lufttrocknen der schräggestellten Ausstriche

Ergebnis: Farbenfrohe, gebräuchlichste Routinefärbung; die Granula werden intensiv gefärbt, die verschiedenen Grundfarben des Protoplasma (Blau oder Rosa) werden deutlich sichtbar.

B) alpha-Naphthylacetat-Esterasefärbung:

- a) 4 Minuten in Formoldampf fixieren
- b) 2 Minuten in Leitungswasser fließend wässern, dann lufttrocknen
- c) etwa 30 Sekunden in chemisch reinem Äther entfetten
- d) 30 Minuten in die jeweils frisch bereitete Inkubationslösung einstellen:
 - 10 mg alpha-Naphthylacetat in 0,2 ml chemisch reinem absoluten Azeton gelöst
 - 40 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,8 - 8,0
 - 50 mg Echtblausalz BB (extrakonzentriert)Das Gemisch wird in eine Cuvette filtriert, in die die Präparate eingestellt werden.
- e) wieder in Leitungswasser fließend abspülen
- f) 8 Minuten Kernfärbung mit Hämalaun nach MAYER
- g) mindestens 15 Minuten in fließendem Leitungswasser bläuen.

Ergebnis: Im Protoplasma der Zellen mit Esteraseaktivität entsteht am Ort der Fermentreaktion ein braunschwarzer feingranulärer Niederschlag.

Für die Differentialzählung der Ausstriche wurden bevorzugt die aufgelockerten Randgebiete benutzt; eintausend Zellen sind pro Präparat jeweils ausgezählt worden. Die Zelldifferenzierung und -zählung wird nach verschiedenen Kriterien durchgeführt. Die nach Pappenheim gefärbten Präparate teilt man der Zellform, d.h. ihrer Morphologie und ihrer Mitosephasen nach ein; die nach der Esterase-reaktion mit alpha-Naphthylacetat gefärbten Präparate werden auch nach ihrer Zellform eingeteilt, ferner nach ihrem Gehalt an alpha-Naphthylacetat-Esterase, um so die Fermentaktivitäten der einzelnen Zellen nach dem von KAPLOW (1955) und ROZENSZAJN (1963) angegebenen Muster einstufen zu können (SCHARIOT, 1969):

- 0 = keine Granulation; Zellen ohne sichtbare Fermentreaktion
- 1 = 1-3 große oder 1-5 kleine Granula
- 2 = 4-6 große oder 6-10 kleine bis mittlere Granula
- 3 = 7-9 große oder 11-16 mittlere oder zahlreiche kleinere Granula
- 4 = zahlreiche große oder mittlere Granula

Um die Indexwerte jeder einzelnen Zellgruppe berechnen zu können, wird die Zellanzahl einer Gruppe und eines bestimmten Aktivitätsgrades mit der Zahl ihrer Reaktionsklasse multipliziert und das Produkt der verschiedenen Grade summiert. Dieses Resultat wird mit 100 multipliziert und durch die Summe der Zellanzahlen einer Gruppe dividiert.

$$\begin{array}{rcl} \text{z.B.:} & 170 \times 1 & = 170 \\ & 20 \times 2 & = 40 \\ \hline & 190 & 210 \end{array}$$

$$210 \times 100 = 21.000$$

$$21.000 : 190 = 110,5 = \text{Index}$$

Der mit Hilfe dieser Rechnung ermittelte Index, der durch die Anzahl der farbstoffpositiven Zellen und ihren Aktivitätsgrad gefunden wird, kann also zwischen den Werten 0-400 liegen, wobei 0 keine Aktivität und 400 die stärkste Aktivität bedeutet.

Auf die Zelldifferenzierung der nach der panoptischen Pappenheim-Methode gefärbten Zellen soll hier nicht weiter eingegangen werden. Sie ist die am besten bekannte und die am häufigsten durchgeführte Untersuchungsmethode. Etwas anders verhält es sich bei der durch die Esterasereaktion mit alpha-Naphthylacetat gefärbten Zellen. Die Unterscheidung der Knochenmarkzellen ist schwieriger, da wichtige Merkmale für die Einstufung der Zellen durch die Spezialfärbung entfallen. Größte Aufmerksamkeit ist der Zellgröße, der Kernstruktur, -form, -größe und der Kern-Plasma-Relation zu widmen.

Die typischen Charakteristika der einzelnen Zellarten, denen natürlich die gleichen morphologischen Gegebenheiten wie sie in der Pappenheimfärbung erkennbar sind zugrunde liegen, werden hier für die alpha-Naphthylacetat-Esterasefärbung mit Hämalaun-Kernfärbung erläutert:

Der Proerythroblast:

Es ist die jüngste Zelle der roten Reihe, hat einen großen runden Kern mit feinretikulärer Chromatinstruktur und ein durch Hämalaun graues Cytoplasma; in Kernnähe liegen meist 3-5 kleinste Granula.

Die Erythroblasten:

Die Kerne haben eine grobschollige Struktur, häufig ist eine Radspeichenform angedeutet, vereinzelt sind sie pyknotisch und liegen exzentrisch im Cytoplasma. Die Fermentaktivität ist an 4-5 kleineren in Kernnähe liegenden Granula erkennbar.

Die Erythroblasten können nicht in weitere Reifungsstufen unterteilt werden, da das Hämoglobin bei dem Azofarbstoffverfahren nicht sichtbar wird. Bei den nach Pappenheim gefärbten Zellen wird ferner der basophile, der polychromatische, der oxyphile und der reife Erythroblast unterschieden.

Der Myeloblast:

Er stellt die unreifste Stufe der granulopoetischen Reifungsreihe dar, hat einen großen rundlich-ovalen feinstrukturierten, verwaschen wirkenden Kern; umgeben ist er von einem schmalen Cytoplasmasaum, in dem vereinzelt 1-5 kleinste Granula liegen. Zum Proerythroblasten besteht große Ähnlichkeit.

Der Promyelocyt:

Diese Zelle ist größer als der Myeloblast, besitzt eine dichte über dem gesamten Cytoplasma verteilte Granulation, davon 1-2 große und 4-5 kleinere Fermentgranula. Der Kern ist oval und etwas eingebuchtet. Das Kern-Plasmaverhältnis beträgt 1:3.

Der Myelocyt:

Er ist kleiner als der Promyelocyt, hat eine ähnliche Kern-Plasmarelation, der Kern ist oval bis bohnenförmig, im Cytoplasma befinden sich 5-7 kleinere Fermentgranula.

Der Metamyelocyt oder Jugendliche:

Von kleineren Myelocyten ist er nicht zu unterscheiden, der Kern ist noch stärker eingebuchtet, die Fermentaktivität ist geringer: etwa 2-4 kleinste Granula.

Der stabkernige Granulocyt:

Der Kern ist U-förmig gebogen, hat überall die gleiche Breite; im Cytoplasma liegen 1-3 kleinste Granula.

Der segmentkernige Granulocyt:

Er hat meistens 3-4 Kernsegmente, die untereinander fadenartig verbunden sind. Man findet nur 1-2 kleinste Fermentgranula.

Der Promonocyt:

Die Zelle ähnelt dem Myelocyten, ist oft fein granuliert und auch leicht mit dem Promyelocyten zu verwechseln. Der Kern ist etwas eingebuchtet und feiner strukturiert als der Myelocytenkern. Bei zunehmender Fermentaktivität wird die feine Granulation geringer und dadurch die Differenzierung vom Promyelocyten sehr schwierig. Etwa 3-4 große und 7-9 mittlere Granula sind zu erkennen.

Der Monocyt:

Im gleichmäßig von Fermentgranula ausgefüllten Cytoplasma befindet sich ein mehrfach gelappter Kern, der teilweise von Granula überlagert ist.

Der Lymphocyt:

Diese Zelle ist etwa so groß wie ein Erythrocyt und stellt die kleinste kernhaltige Zelle dar. Der Kern hat eine verwaschene, marmorierte, grobe Struktur und ist von

einem schmalen Cytoplasmasaum umgeben, in dem sich 1-2 kleine und 1-4 kleinste Fermentgranula befinden.

Die große Retikulumzelle:

Sie besitzt einen locker strukturierten Kern, um den herum oft kein Cytoplasma erkennbar ist, oder es ist so zerfließlich, daß die Grenzen nicht mehr klar erkennbar sind. Auf der ganzen Zelle sind Fermentpräcipitate verteilt.

Die Plasmazelle:

Der kleine, dichte Kern der Zelle verfügt über ein großes radspeichenartiges Chromatingerüst, liegt exzentrisch und wird von einem groß ausgedehnten Cytoplasma umgeben (Kern-Plasmaverhältnis 1: 4,3). Die Fermentaktivität ist in Form von 1-2 kleinen und 1-5 kleinsten Granula sichtbar.

Wie sich die alpha-Naphthylacetat-Esteraseaktivität in den Zellen bei Zusatz und ohne Zusatz von Fremdserum im Originalpräparat und in den angesetzten Kulturen auswirkt, wird in einer graphischen Übersicht dargestellt.

Bei den Zellen, die nach Pappenheim gefärbt sind, werden neben der morphologischen Differenzierung auch noch die beobachteten Mitosephasen registriert. Es werden folgende Teilungsphasen unterschieden (BOLL, 1966):

1. Prophase: Die Kernmembran ist aufgelöst.

Die Nuclei sind nicht mehr vorhanden. Die lockeren Chromosomen sind noch zu einem festen Spirem angeordnet.

2. Frühe Metaphase : Lockeres Spirem. Die Chromosomen sind über die ganze Zelle verteilt.
3. Späte Metaphase : Stadium der Äquatorialplatte, die in der Aufsicht als Monaster mit sternförmig angeordneten Chromosomen erkennbar ist.
4. Anaphase : Die Chromosomen sind in zwei Gruppen angeordnet und bilden einen Diaster.
5. Telophase : Die Taillenbildung des Zellleibes ist erkennbar, die Chromosomen der Tochterzellen liegen in beiden Zellhälften als lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase : Zwischen beiden sich spiegelbildlich gleichenden Tochterzellen ist gelegentlich noch ein feiner Plasmafaden erkennbar. Die Chromosomen jeder Zelle liegen in festem Dispirem. Kernmembran und Nucleolen sind noch nicht wieder ausgebildet.

Indem man die Anzahl der Mitosen pro tausend teilungsfähige Zellen feststellt, erhält man, getrennt für die Erythro- und Granulopoese, den roten und den weißen Mitoseindex (rMi und wMi), der in Promille ausgedrückt wird.

Teilungsfähig sind folgende Zellen:

Granulopoese:

Myeloblast
Promyelocyt
Myelocyt
Metamyelocyt
Promonocyt

Erythropoese:

Proerythroblast
basophiler Erythroblast
polychromatischer Erythroblast
oxyphiler Erythroblast

Ferner ist der G/E-Index zu errechnen, womit das zahlenmäßige Verhältnis der Zellen der Granulopoese zu denen der Erythropoese ausgedrückt wird.

Die prozentuale Verteilung der Zellformen ist als Reifungskurven in graphischen Abbildungen dargestellt (getrennt für die rote und weiße Reihe).

Die karyologischen Kurven zeigen die prozentuale Verteilung der einzelnen Mitosephasen. (Ordinate: Mitosehäufigkeit in %, Abszisse: Mitosephasen).

Die statistische Berechnung auf abweichende Zellverteilungen für die Kontrollen und Zusatzkulturen wurde nach dem χ^2 - Test (BELITZ, 1960; FUCHS, 1969; SCHS, 1976) durchgeführt.

E R G E B N I S S E

Das Serum der folgenden beiden Patienten wird als Zusatz zu den Knochenmarkkulturen verwendet:

1) Wilhelm S., geb. 06.01.06

Bei dem Patienten traten seit 1972 rezidivierend rötliche makulapapulöse Effloreszenzen überwiegend im Bereich des Thorax sowie beider Arme auf, die spontan vorübergehend verschwanden, nicht juckend und indolent sind. Es erfolgte die Aufnahme zur Abklärung einer fraglichen Systemerkrankung. Die gründliche Durchuntersuchung des Patienten führte zu der Diagnose: chronische myelo-monocytäre Leukämie.

Therapie zur Zeit der Blutentnahme (am 25.03.76):

Zyloric[®] 2 x 1 Tbl./die, Mixt. pepsini (RF) 3 x 1 EBl./die, Bactrim[®] 2 x 2 Tbl./die.

Blutbild:

Erythrocyten	:	2,62 Mio/ μ l
Hb	:	8,9 g%
Hb _E	:	33,8 pg
Thrombocyten	:	51.000/ μ l
Reticulocyten	:	14 %
Leukocyten	:	6.800 / μ l
Basophile	:	3 %
Stabkernige	:	15 %
Segmentkernige	:	46 %
Lymphocyten	:	27 %
Monocyten	:	9 %
BSG	:	101/140 mm n.W.

Das Sternalpunktat (vom 04.02.76) ergab folgende Diagnose: Befund wie bei chronischer myelo-monocytärer Leukämie. Die Granulopoese ist gesteigert und linksverschoben; der Anteil der Promonocyten und Monocyten ist stark vermehrt. Der weiße Mitoseindex (wMi) beträgt 17 % . Die Erythro-

poese ist vermindert.

2) Frieda F. geb.: 01.08.01

Die Aufnahme erfolgte wegen zunehmender Schwäche und Appetitlosigkeit. Bei der Patientin liegt bekannterweise seit 1975 eine chronische myelo-monocytäre Leukämie vor. Außerdem besteht eine hypochrome Anämie.

Therapie zur Zeit der Blutentnahme (am 18.03.76):

Novodigal[®] 1 Tbl./die, Pepsaletten[®] 3 x 1 /die.

Blutbild:

Erythrocyten	:	3,59 Mio/ μ l
Hb	:	8,1 g%
Hb _E	:	22,4 pg
Thrombocyten	:	75.000 / μ l
Leukocyten	:	4.100 / μ l
Basophile	:	1 %
Myeloblasten	:	7 %
Promyelocyten	:	4 %
Myelocyten	:	7 %
Metamyelocyten	:	2 %
Stabkernige	:	7 %
Segmentkernige	:	15 %
Lymphocyten	:	42 %
Monocyten	:	9 %
BSG	:	17/40 mm n.W.

Das Sternalpunktat (vom 10.02.76) ergab folgende Diagnose:
Befund wie bei chronischer myelo-monocytärer Leukämie.

Die Granulopoese ist vermehrt und linksverschoben; es kommen vorwiegend Promyelocyten, Myelocyten, Jugendliche, Segmentkernige und Stabkernige vor. Der Prozentsatz der Promonocyten und Monocyten ist erhöht. Der weiße Mitose-index (wMi) beträgt 15 %. Die Erythropoese ist vermindert.

Das Untersuchungsmaterial für die Kulturen entstammt den Sternalpunktaten folgender Patienten, deren Krankheitsbilder zur Zeit der Punktion hier aufgeführt sind:

I. Ursula C., geb.: 23.09.15

Die Klinikaufnahme erfolgte zur Abklärung eines Gewichtsverlustes von etwa 5-10 kg innerhalb der letzten vier Wochen. Bei der gründlichen Durchuntersuchung der Patientin stellte sich eine chronische Gastritis mit ausgeprägter Subazidität, eine Cholelithiasis sowie eine Coxarthrose bds. dar. Therapie bis zur Zeit der Punktion:

Noveril[®] 240 mg. Blutbild (vom 14.04.76):

Erythrocyten	:	4,23 Mio/ μ l
Hb	:	14,5 g%
Hb _E	:	34,1 pg
Leukocyten	:	5.000 / μ l
Eosinophile	:	2 %
Stabkernige	:	3 %
Segmentkernige	:	56 %
Lymphocyten	:	29 %
Monocyten	:	10 %
Sonstiges	:	Einige atypische Lymphocyten und Monocyten
BSG	:	10/21 mm n.W.

Das Sternalpunktat (vom 22.04.76) ergab folgende Diagnose:
Im wesentlichen normaler Knochenmarkbefund.

II. Charlotte M., geb.: 14.05.02

Seit zwei Monaten leidet die Patientin unter Übelkeit, Appetitlosigkeit und hat eine Aversion gegen Fleisch und Fett. In sechs Wochen verlor sie 7 kg an Gewicht. Bei der Magensaftanalyse mit Pentagastrin stellte sich eine Subazidität heraus. Die Therapie bis zur Sternalpunktion:

Lanicor[®] 0,25 mg 1-2 Tbl./die und fast täglich Pepsaletten[®]
3 x 3 Kaps..

Blutbild (vom 07.07.76):

Erythrocyten	:	4,41	Mio/ μ l
Hb	:	13,1	g%
Hb _E	:	30,6	pg
Leukocyten	:	4.500	/ μ l
Basophile	:	1	%
Eosinophile	:	4	%
Stabkernige	:	1	%
Segmentkernige	:	50	%
Lymphocyten	:	35	%
Monocyten	:	9	%
BSG	:	35/70	mm n.W.

Das Sternalpunktat (vom 14.07.76) ergab folgende Diagnose:
Weitgehend normaler Knochenmarkbefund bei leichter Vermehrung der Eosinophilen.

III. Martin N., geb. 24.05.99

Der Patient kam zur stationären Aufnahme, da seit ca. 14 Tagen krampfartige Oberbauchbeschwerden bestanden, verbunden mit stenocardischen Beschwerden. In den letzten 14 Tagen hatte er mehrmals erbrechen müssen; Gewichtsabnahme in wenigen Wochen ca. 5 kg. Die klinische Diagnose: Normochrome Anämie mit multiplen Osteolysen. Die Therapie bis zur Sternalpunktion:

Novodigal[®] 2 x 1 Tbl./die, Spasmo-Urgenin[®] 3 x 2 Tbl./die, Valium[®] 10 mg /die, Bisolvon[®] 3 x 40 Tr./die.

Blutbild (vom 10.05.76):

Erythrocyten:	3,6	Mio/ μ l
Hb	:	10,7 g%
Hb _E	:	29,7 pg
Leukocyten	:	6.000 / μ l
Basophile	:	1 %
Eosinophile	:	3 %
Stabkernige	:	10 %

Segmentkernige : 71 %
Lymphocyten : 9 %
Monocyten : 6 %
BSG : 65/102 mm n.W.

Das Sternalpunktat (vom 11.05.76) ergab folgende Diagnose:
Befund wie bei chronischer Abwehrreaktion z.B. Tumor oder
chronischem Infekt.

Die nachfolgenden Tabellen und Abbildungen sollen die Ergebnisse der Knochenmarkausstriche übersichtlich darstellen. Zwei Gruppen von Resultaten stehen nebeneinander:

- A. Die Wirkung von Serum bei chronischer myelomonocytärer Leukämie auf normales Knochenmark mit der Pappenheim-Färbung.
- B. Die Wirkung von Serum bei chronischer myelomonocytärer Leukämie auf normales Knochenmark mit der alpha-Naphthylacetat-Esterasefärbung.

A. Die Ergebnisse der ersten Gruppe

In den Abbildungen der Reifungskurven werden folgende Abkürzungen verwendet:

Erythropoese: PE: Proerythroblasten
bE: basophile Erythroblasten
pE: polychromatische Erythroblasten
oE: oxyphile Erythroblasten
rE: reife Erythroblasten

Granulopoese: Mb: Myeloblasten
P: Promyelocyten
M: Myelocyten
Pm: Promonocyten
MM: Metamyelocyten
St: Stabkernige
S: Segmentkernige
Mo: Monocyten

Auf der Ordinate ist oben angefangen mit der Stunde Null fortlaufend die Kulturdauer von 24, 48 und 72 Stunden aufgetragen, auf der Abszisse die prozentualen Anteile der Zellklassen in additiver Form (jeweils für Erythro-

poese und Granulopoese einschließlich Monopoese getrennt).

Anschließend folgen für die Zellklassen der Promonocyten und Monocyten, gesondert nach jedem Versuch, statistische Auswertungen, die mit dem χ^2 - Test durchgeführt worden sind^x. Der Unterschied von zwei zu vergleichenden Stichproben (in dieser Arbeit die Werte der Kontroll- und Zusatzkulturen nach 24, 48 und 72 Stunden) ist danach ausreichend von Null verschieden und damit signifikant im Sinne der Statistik, wenn der zu ermittelnde Wahrscheinlichkeitswert unterhalb einem für jeden Vergleich vorher festzusetzenden Niveau liegt. Die folgenden zwei Grenzwerte $\alpha = 0,05$ (5%) und $\alpha = 0,01$ (1%), die international gebräuchlich sind, wurden auch in den vorliegenden Untersuchungen zugrunde gelegt. Bei Werten, die kleiner als 0,05 bzw. 0,01 ausfallen, sind die Beobachtungen mit der Nullhypothese nicht vereinbar; bei Werten, die größer als 0,05 bzw. 0,01 sind, wird die Nullhypothese angenommen. Die χ^2 - Werte ($=x^2$) in den statistischen Tabellen sind mit Hilfe eines Elektronenrechners nach dieser Formel ermittelt worden:

$$x^2 = \frac{\sum (B-E)^2}{E}$$

Dabei steht B für den Beobachtungswert und E für den zu errechnenden Erwartungswert. Einer Tabelle entnimmt man den dem χ^2 zugehörigen Wahrscheinlichkeitswert unter Berücksichtigung des entsprechenden Freiheitsgrades, der in dieser Arbeit immer zwei ist.

^xFür die Beratung bei den statistischen Berechnungen danke ich Herrn Dr. Hopfenmüller vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation (Direktor: Prof. Dr. Dr. Fuchs)

Tabelle 1 : Prozentuale Zellverteilung bei Versuch I

Erythropoese

0 Std.		24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
Orig.		Kontr.	Zus. ^x S.S.	Zus. ^x F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.
PE	6,8	2,2	2,5	2,4	1,5	1,2	1,0	0,5	0	0
bE	14,5	10,7	11,9	10,7	7,2	5,8	6,0	6,5	4,9	5,4
pE	68,3	52,3	55,7	52,7	43,8	41,8	40,3	52,7	51,6	50,3
oE	3,2	10,3	11,5	11,8	8,4	6,4	5,0	3,2	2,7	2,4
rE	7,2	24,5	18,4	22,4	39,1	44,8	47,7	37,1	40,8	41,9

Granulopoese

0 Std.		24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
Orig.		Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.
Mb	2,1	3,2	3,2	2,5	2,8	1,6	2,0	2,9	1,9	2,7
P	31,8	34,3	32,5	32,3	25,6	23,2	29,4	26,9	24,7	29,0
M	11,4	14,2	13,5	12,7	13,1	11,9	13,9	11,3	11,2	11,8
Pm	0,8	1,6	2,1	1,3	1,8	1,3	1,6	2,8	1,9	1,8
MM	14,0	13,3	7,1	14,7	15,7	11,6	12,6	16,5	12,5	14,6
St	17,8	16,4	13,3	17,8	22,2	20,7	19,6	20,4	20,4	18,8
S	18,6	11,2	13,3	13,3	14,8	20,2	16,4	14,6	19,3	15,4
Mo	3,5	5,8	15,0	5,4	4,0	9,5	4,5	4,6	8,1	5,9

^xZus.S.S.: Zusatz S.-Serum

^xZus.F.S.: Zusatz F.-Serum

Versuch I

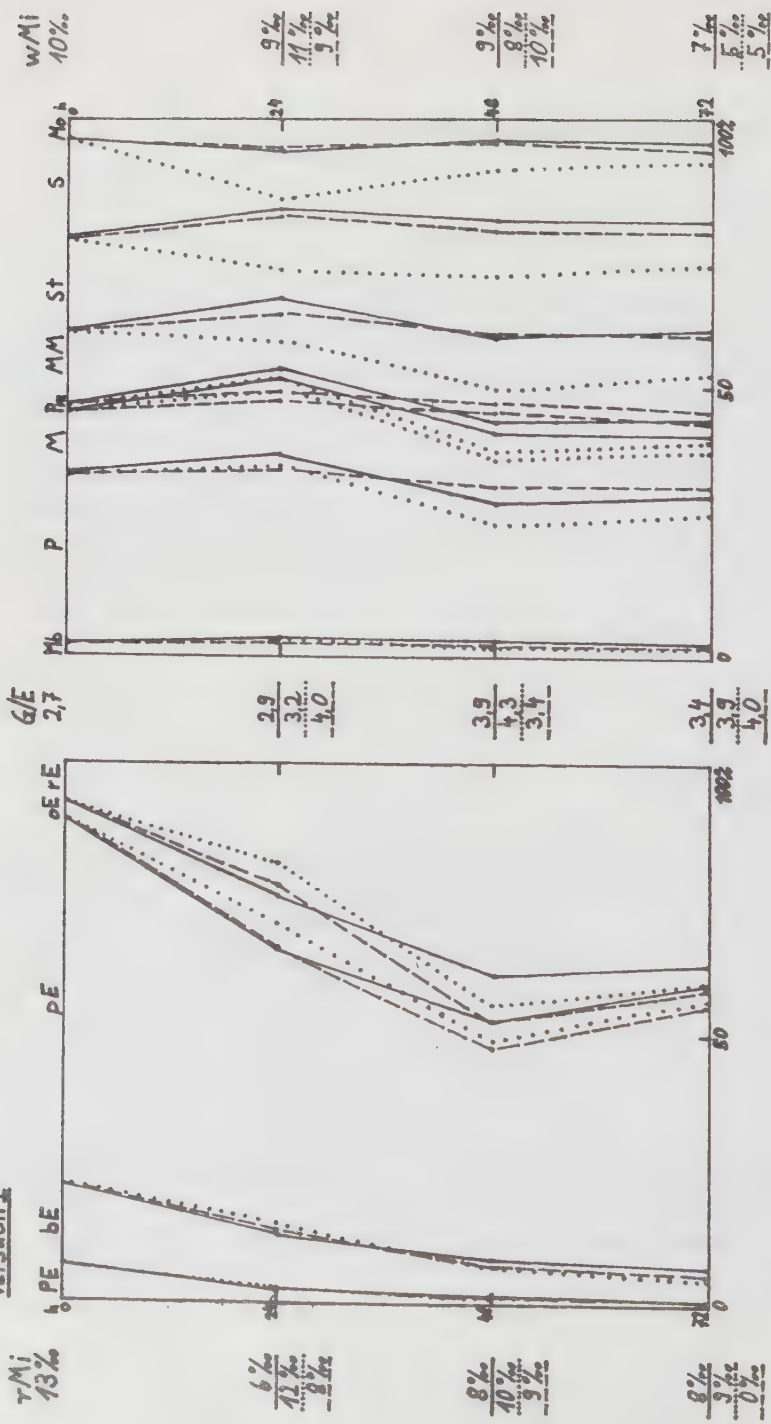


Abb. 1: ——— Kontrolle; - - - - - Zusatz: S-Serum; Zusatz: F-Serum

Signifikanzberechnung der Promonocyten und Monocyten
von Versuch I:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.
Gesamtzahl d. Granulopoese	682	652	770	746	680	721
Promonocyten	11	14	14	10	19	14
sonst.Zellen d.Granulopoese	671	638	756	736	661	707
	$\chi^2 = 0,518$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 0,555$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 1,105$ $\alpha > 0,01$	
Gesamtzahl d. Granulopoese	682	652	770	746	680	721
Monocyten	40	98	31	70	31	58
sonst.Zellen d.Granulopoese	642	554	739	676	649	663
	$\chi^2 = 30,192$ $\alpha < 0,01$		$\chi^2 = 17,489$ $\alpha < 0,01$		$\chi^2 = 7,147$ $\alpha < 0,05$	

Die Promonocytenwerte sind mit der Nullhypothese vereinbar.
Die Monocytenwerte sind auf dem 5%- bzw. 1%-Niveau signifi-
kant von Null verschieden, die Nullhypothese wird abgelehnt.

Tabelle 2 : Prozentuale Zellverteilung bei Versuch II

Erythropoese

0 Std.	24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
Orig.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.
PE 11,6	7,2	9,7	8,0	2,3	1,8	0,9	0	0	0
bE 16,2	11,7	15,5	16,8	6,9	3,0	7,2	6,7	3,7	5,2
pE 60,7	51,5	52,9	50,8	40,0	30,9	18,2	49,2	34,1	25,1
oE 5,5	10,2	11,6	9,2	8,0	3,6	5,9	4,5	3,7	3,5
rE 6,0	19,4	10,3	15,2	42,8	60,7	67,8	39,6	58,5	66,2

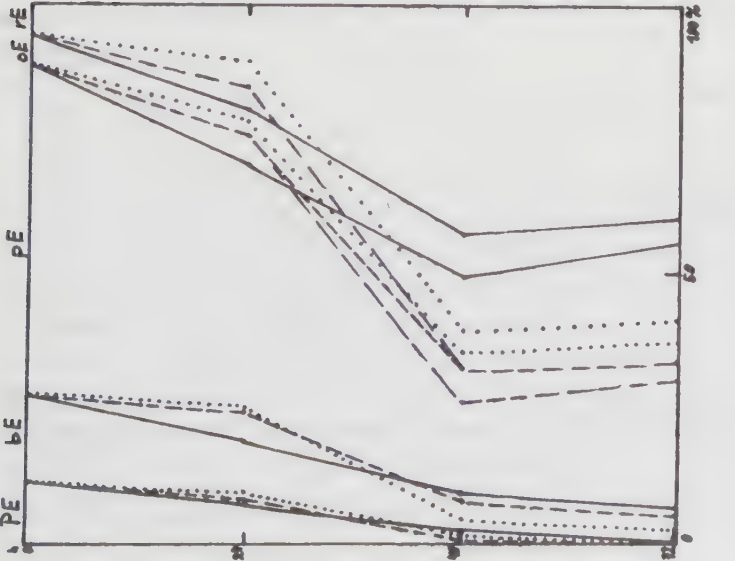
Granulopoese

0 Std.	24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
Orig.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.
Mb 1,7	2,1	1,4	2,0	1,4	1,3	1,3	1,0	1,0	1,0
P 18,8	23,1	23,5	25,0	20,5	19,9	19,3	19,2	18,4	18,0
M 16,0	20,1	17,2	19,6	19,7	19,1	21,3	20,1	19,0	21,9
Pm 0,6	0,5	0,4	0,7	0,6	0,7	0,5	0,3	0,4	0,6
MM 14,1	16,2	16,1	17,3	15,4	18,2	20,1	16,5	18,6	16,9
St 22,8	16,1	15,9	18,9	19,4	18,1	20,7	18,6	18,3	19,5
S 23,1	16,5	19,7	11,6	18,7	15,9	13,9	18,9	17,1	19,6
Mo 2,9	5,4	5,8	4,9	4,3	6,8	2,9	5,4	7,2	2,5

Versuch I

WMI
14%

G/E
3,0



WMI
15%

12%
10%
13%

10%
10%
10%

5%
5%
8%

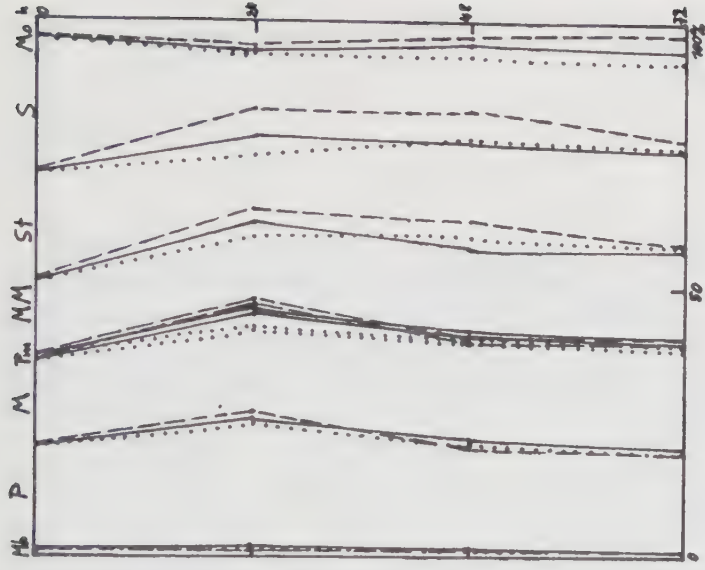


Abb. 2: ———— Kontrolle; ——— Zusatz: S-Serum; ——— Zusatz: F-Serum

Signifikanzberechnung der Promonocyten und Monocyten

von Versuch II:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.
Gesamtzahl d. Granulopoese	666	694	691	680	683	695
Promonocyten	3	3	4	5	2	3
sonst.Zellen d.Granulopoese	663	691	687	675	681	692
	$\chi^2 = 0,003$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 0,129$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 0,184$ $\alpha > 0,01$	
Gesamtzahl d. Granulopoese	666	694	691	680	683	695
Monocyten	36	40	30	46	37	50
sonst.Zellen d. Granulopoese	630	654	661	634	646	645
	$\chi^2 = 0,083$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 3,843$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 1,839$ $\alpha > 0,01$	

Die Promonocyten- und Monocytenwerte stützen die Nullhypothese.

Tabelle 3 : Prozentuale Zellverteilung bei Versuch III

Erythropoese

0 Std.	24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
Orig.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Zus. F.S.
PE 13,8	4,3	6,0	4,8	3,3	5,9	1,8	0,6	0,7	0,8
bE 17,2	15,7	17,9	14,3	6,6	10,1	2,7	4,3	4,3	3,1
pE 57,9	27,1	30,8	25,7	26,5	27,7	30,4	30,4	24,7	28,6
oE 4,1	3,6	6,0	5,7	8,0	9,2	8,8	5,0	7,3	3,2
rE 7,0	49,3	39,3	49,5	55,6	47,1	56,3	59,7	63,0	64,3

Granulopoese

0 Std.		24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
Orig.		Kontr.	Zus.	Zus.	Kontr.	Zus.	Zus.	Kontr.	Zus.	Zus.
			S.S.	F.S.		S.S.	F.S.		S.S.	F.S.
Mb	3,1	2,0	1,7	1,8	1,5	1,0	1,1	1,0	0,7	0,4
P	22,3	27,9	29,2	26,0	26,5	24,2	24,0	21,3	18,7	21,0
M	13,5	18,1	17,3	15,0	20,1	17,2	18,1	20,4	20,4	21,2
Pm	1,0	1,0	1,0	0,8	0,6	0,4	1,3	0,7	0,3	0,1
MM	16,4	14,5	13,2	14,4	13,4	15,7	12,1	14,7	17,1	15,7
St	20,5	18,0	18,5	19,1	19,5	19,6	19,5	22,2	20,8	19,2
S	19,3	13,7	13,8	17,4	15,5	16,6	18,3	16,9	17,4	18,2
Mo	3,9	4,8	5,3	5,5	2,9	5,3	5,6	2,8	4,6	4,2

Versuch III

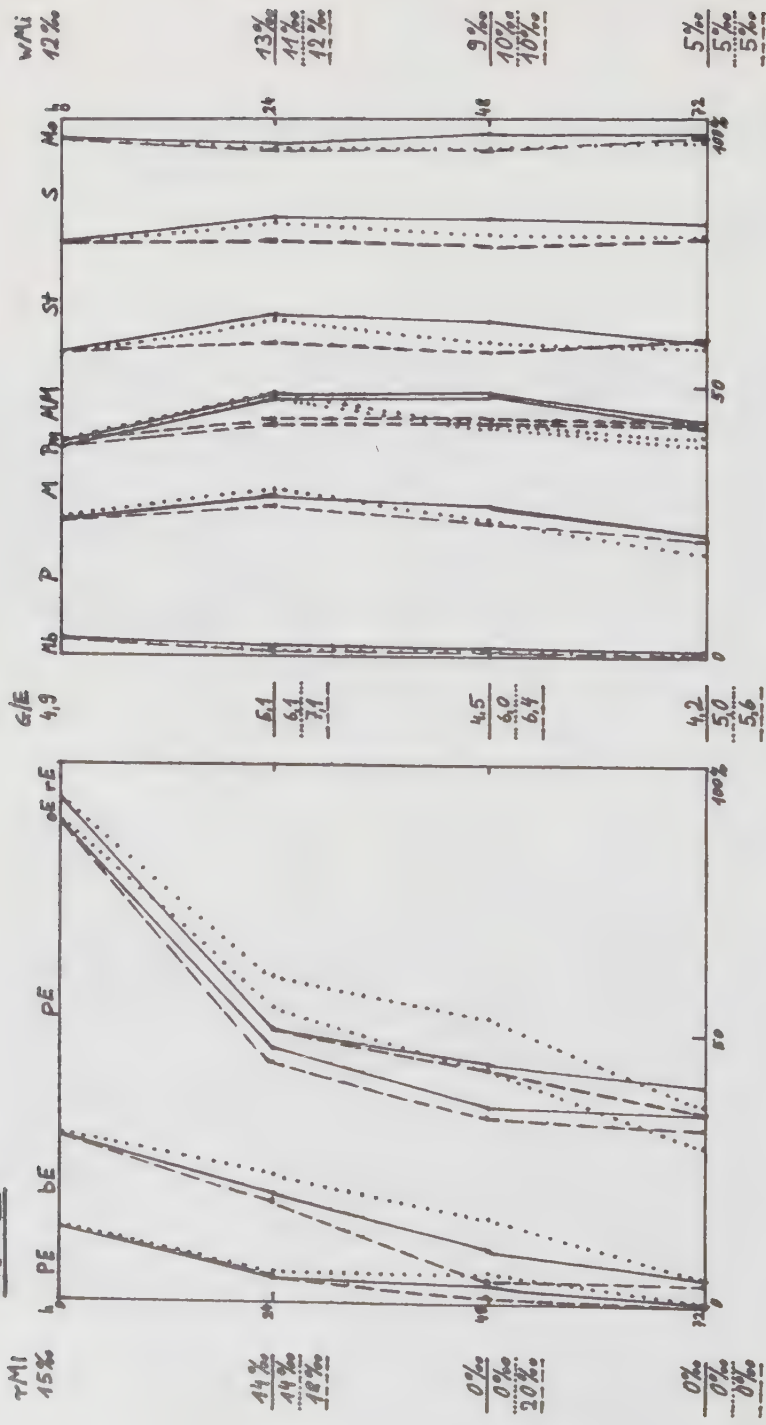


Abb. 3: —. Kontrolle; Zusatz: S-Serum; --- Zusatz: F-Serum

Signifikanzberechnung der Promonocyten und Monocyten
von Versuch III:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.
Gesamtzahl d. Granulopoese	707	716	686	719	672	696
Promonocyten	7	7	4	3	5	2
sonst.Zellen d. Granulopoese	700	709	682	716	667	694
	$\chi^2 = 0,001$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 0,195$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 1,401$ $\alpha > 0,01$	
Gesamtzahl d. Granulopoese	707	716	686	719	672	696
Monocyten	34	38	20	38	18	32
sonst.Zellen d. Granulopoese	673	678	666	681	654	664
	$\chi^2 = 0,124$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 4,981$ $\alpha > 0,01$		$\chi^2 = 3,576$ $\alpha > 0,01$	

Zwischen den verglichenen Meßwerten besteht kein signifikanter Unterschied, die Nullhypothese wird angenommen.

Zusammenfassung der Ergebnisse von Gruppe A (Pappenheimfärbung)

Reifungskurven der Erythropoese

Die Originalausstriche zeigen eine Zellverteilung, wie sie bei Normalfällen zu erwarten ist. In Versuch II und III treten die Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten etwas vermehrt auf, die Anzahl der reifen Erythroblasten bleibt in allen 3 Versuchen konstant.

Mit zunehmender Bebrütungsdauer kommt es auf Grund einer verminderten Zellanzahl der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten zugunsten der reifen Erythroblasten zu einer Linksverschiebung der Reifungskurven. Annähernd gleichermaßen findet sich diese Entwicklung in den Kontrollen und in den Zusatzkulturen.

Vergleicht man die Kurven nach 24 Stunden Kulturdauer, so zeigt sich in den Versuchen I und II eine geringere Ausreifung der Erythropoese bei den Zusätzen, während bei Versuch III das nur für ein Serum zutrifft, und das andere den gleichen Reifungsprozentsatz wie die Kontrolle aufweist.

Nach 48 Stunden ist bei den Zusatzkulturen bis auf Versuch III eine stärkere Ausreifung als bei den Kontrollkurven zu beobachten.

In den Versuchen I und III stellt sich nach 72 Stunden eine Annäherung an die Werte der Kontrollkulturen dar, während bei Versuch II eine stärkere Ausreifung der Zusatzkulturen zu verzeichnen ist.

Reifungskurven der Granulopoese

Auch die granulopoetische Zellverteilung zeigt bei den Originalpräparaten der Norm entsprechende Werte.

Gegenüber Versuch II und III liegt bei Versuch I eine leichte Vermehrung der Promyelocyten vor.

Im Verlauf der Inkubation kommt es bei den Kontrollkulturen vorerst zu einer Vermehrung der teilungsfähigen Granulocyten, anschließend folgt dann eine stärkere Ausreifung. Das Ausmaß dieser Veränderungen zeigt in den einzelnen Versuchen nur geringfügige Unterschiede. Nach 72 Stunden ist die prozentuale Verteilung der Kurven fast genau an dem Punkt angelangt, wo auch ihre Ausgangswerte liegen (Abb. 1-3).

Die Zusatzkulturen unterscheiden sich wie folgt von den Kontrollen:

Nach 24 Stunden liegen in den Versuchen I und III die Kurven der beiden Zusatzkulturen links von denen der Kontrollkulturen oder in unmittelbarer Nähe. In Versuch II befinden sich bei dem Zusatz F.-Serum die Punkte der Reifungskurven rechts von den Kontrollwerten.

Nach 48 Stunden ist die Reifung der Zusatzkulturen bei Versuch I durch das S.-Serum und bei Versuch III durch das F.-Serum etwas weiter fortgeschritten. Bei Versuch II liegen die Werte der Kontrolle und der Zusätze dicht aneinander.

Nach 72 Stunden ist bei allen drei Versuchen festzustellen, daß sich durch Fremdserumzusatz die Reifung der Zellen kaum verändert. In den meisten Kurven liegen die Werte unmittelbar beieinander.

Die monocytären Zellen

a) Promonocyten

Nach 24 Stunden findet man in den Zusatzkulturen im Gegensatz zu den Kontrollkulturen in den Versuchen I und III eine geringfügige Abnahme ihrer Zellanzahl, während in Versuch II der Zusatz F.-Serum eine mäßige Zunahme aufweist.

Nach 48 Stunden beobachtet man in Versuch I bei einem Serum eine leichte Zunahme, beim anderen eine leichte

Abnahme, in Versuch II herrscht Gleichstand mit der Kontrollkultur, im Versuch III sind beide Zusätze reduziert.

Nach 72 Stunden haben sich die Werte der Kontroll- und Zusatzkulturen wieder sehr stark genähert.

b) Monocyten

Nach 24 Stunden stellt sich in Versuch I bei dem Zusatz S.-Serum eine wesentliche Vermehrung dar, die Werte in II und III verhalten sich indifferent.

Nach 48 Stunden sind in Versuch I die Prozentwerte des Zusatzes S.-Serum immer noch erhöht, in Versuch II und III sind sie etwas vermehrt.

Nach 72 Stunden ist in Versuch I der erhöhte Anteil des Zusatzes S.-Serum sichtbar geblieben. In Versuch II liegen abweichende Werte vor. In Versuch III ist ein geringfügiger Unterschied zwischen Kontroll- und Fremdserumzusatzkulturen feststellbar.

Im Gegensatz zum F.-Serum verursacht das S.-Serum in allen drei Versuchen zu jeder Zeit eine Vermehrung der Monocyten. Dieser Vorgang zeigt in Versuch I nach 24, 48 und 72 Stunden signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und Zusatzkulturen. Bei den beiden anderen Versuchen reicht die Vermehrung zur Ablehnung der Null-Hypothese nicht aus.

In einer Übersicht zeigt Tab. 4 die prozentualen Anteile der monocytären Zellen, wobei oben die Originalpräparate der Serenspender denen der Knochenmarkspender gegenübergestellt sind. Es kommen diese Zellen in unterschiedlicher Häufigkeit innerhalb der gesamten Granulopoese vor. Im Durchschnitt weist die Menge der monocytären Zellen der Serenspender einen dreifach höheren Betrag auf, als er bei den Knochenmarkspendern zu finden ist. Daran anschließend ist die prozentmäßige Verteilung während der Kultivierungsphase aufgeführt. Dabei fällt die starke Vermeh-

rung der monocytären Zellen durch den Zusatz S.-Serum in Versuch I auf.

Tabelle 4 : Die monocytären Zellen - Prozentanteile in
Original- und Kulturpräparaten

Originalpräparate

	Serenspender		Knochenmarkspender		
	W.S.	F.F.	I U.C.	II C.M.	III M.N.
Promonocyten	69	47	5	4	7
Monocyten	117	129	23	19	28
Insgesamt	186	176	28	23	35
Anteil an der gesam- ten Granulopoese in %	12,4	12,3	4,3	3,5	4,9

Kulturpräparate

mit Zusatz S.-Serum nach	24 Stunden	17,1	6,2	6,3
	48 Stunden	10,8	7,5	5,7
	72 Stunden	10,0	7,6	4,9
mit Zusatz F.-Serum nach	24 Stunden	6,7	5,6	6,3
	48 Stunden	6,1	3,4	6,9
	72 Stunden	7,7	3,1	4,3

Mitoseindices, G/E-Indices, karyologische Kurven

Mitose-Indices der Erythropoese (Tab.5, Abb.4)

Vergleicht man die Mittelwerte der Originalpräparate mit den 24 Stundenwerten, so stellt man eine Abnahme der Indices *in vitro* fest. Das gilt gleichermaßen für Kontroll- und Zusatzkulturen. Im weiteren Verlauf der Kultivierung werden die Werte immer niedriger, mit einer Ausnahme. Dieser Anstieg nach 48 Stunden in einer Zusatzkultur darf nicht überbewertet werden, da dieser hohe Wert nur deshalb zustandekommt, weil eine relativ niedrige Mitoseanzahl (3) einer kleinen Menge teilungsfähiger Erythroblasten gegenübersteht.

Mitose-Indices der Granulopoese (Tab.6, Abb.4)

In den Originalpräparaten ist der Mitoseindex wieder am größten. Einheitlich ist auch die Tendenz im Verlauf der Inkubation: gegenüber dem Ausgangswert sinken die 24, 48 und 72 Stundenwerte allmählich ab. Die Abweichung zwischen den beiden Zusatz-Kulturen von den Kontrollwerten ist äußerst gering.

G/E-Indices (Tab.7, Abb.5)

Die G/E-Indices liegen mit ihrem Mittelwert im Normbereich (3,5). Im Verlauf der Inkubation erreichen die ansteigenden Werte der Kontroll- und Zusatzkulturen einen Höhepunkt nach 48 Stunden, mit einer Ausnahme (Versuch III, F.-Serum). Ein deutlicher Unterschied der G/E-Indices der Zusatzkulturen gegenüber den Kontrollen ergibt sich nicht.

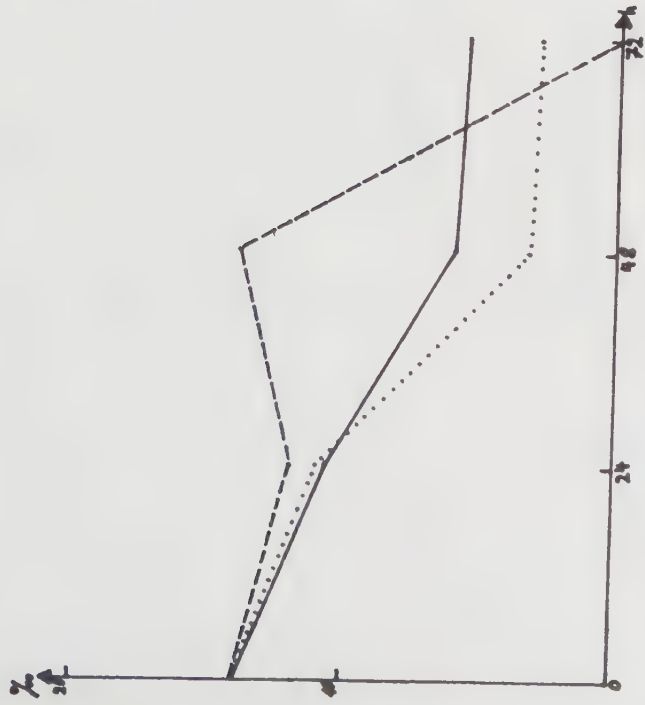
Tabelle 5 : Mitoseindices der Erythropoese (in Promille)

	Orig.	Kontrolle			S.-Serum			F.-Serum		
	OStd.	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Vers.I	13,0	6,0	8,0	8,0	12,0	10,0	9,0	8,0	9,0	0
Vers.II	14,0	12,0	10,0	9,0	7,0	0	0	10,0	13,0	0
Vers.III	15,0	14,0	0	0	14,0	0	0	18,0	20,0	0
Mittel- werte	14,0	10,7	6,0	5,7	11,0	3,3	3,0	12,0	14,0	0

Tabelle 6 : Mitoseindices der Granulopoese (in Promille)

	Orig.	Kontrolle			S.-Serum			F.-Serum		
	OStd.	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Vers.I	10,0	9,0	9,0	7,0	11,0	8,0	5,0	9,0	10,0	5,0
Vers.II	15,0	12,0	10,0	5,0	10,0	10,0	5,0	13,0	10,0	8,0
Vers.III	12,0	13,0	9,0	5,0	11,0	10,0	5,0	12,0	10,0	5,0
Mittel- werte	12,3	11,3	9,3	5,7	10,7	9,3	5,0	11,3	10,0	6,0

Mittelwertskurven der roten Mitoseindices



Mittelwertskurven der weißen Mitoseindices

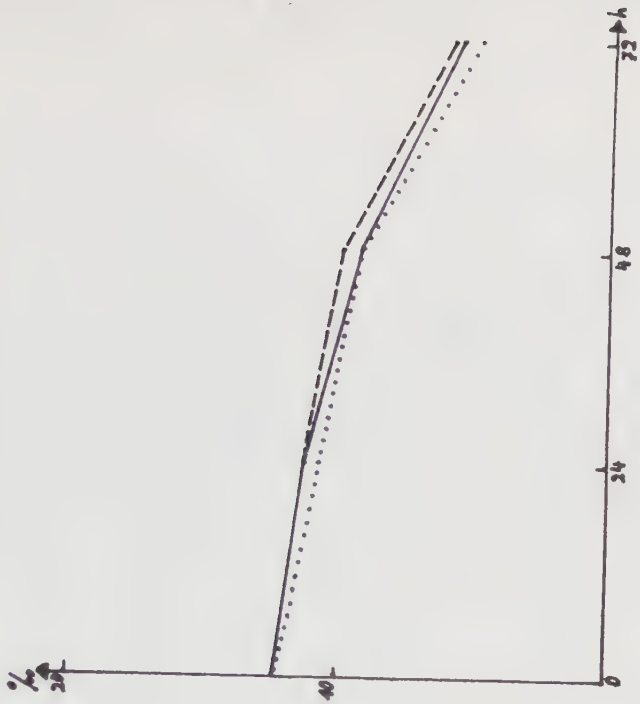


Abb. 4 : — Kontrolle ; Zusatz: S.- Serum ; ---- Zusatz: F.- Serum

Tabelle 7: G/E Indices

	Orig.	Kontrolle			S.-Serum			F.-Serum		
	OStd.	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Vers.I	2,7	2,9	3,9	3,4	3,2	4,3	3,9	4,0	3,4	4,0
Vers.II	3,0	3,4	3,9	3,8	4,4	4,1	4,2	2,6	2,7	2,7
Vers.III	4,9	5,1	4,5	4,2	6,1	6,0	5,0	7,1	6,4	5,6
Mittel- werte	3,3	3,8	4,1	3,8	4,6	4,8	4,4	4,6	4,2	4,1

Mittelwertskurven der G/E-Indices

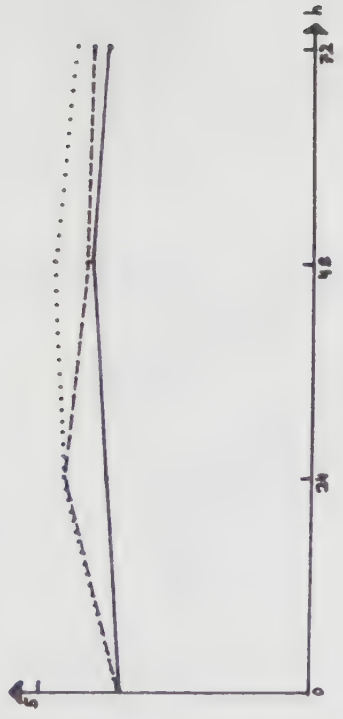


Abb. 5 : — Kontrolle; S-Serum; ---- F-Serum

Die karyologischen Kurven (Abb. 6)

Da bei der Erythropoese nur eine kleine Mitoseanzahl zu beobachten war, wird auf die Erstellung einer graphischen Darstellung verzichtet.

Bei der Granulopoese werden die Mitosen der Versuche I, II und III verwertet. In den Kulturen, denen S.-Serum zugesetzt wurde, verläuft die Kurve fast deckungsgleich mit der karyologischen Kurve der Kontrollzählungen. In den Kulturen mit F.-Serum ist in der Kurve der Anteil der frühen Metaphasen gegenüber der Kontrolle etwas erhöht; der Anteil der späten Metaphasen ist dagegen vermindert. Insgesamt 91 Mitosen liegen der Darstellung zugrunde.

Folgende Abkürzungen werden in Abb. 6 verwendet:

Abszisse: die verschiedenen Mitosephasen

P = Prophase

fM = frühe Metaphase

sM = späte Metaphase

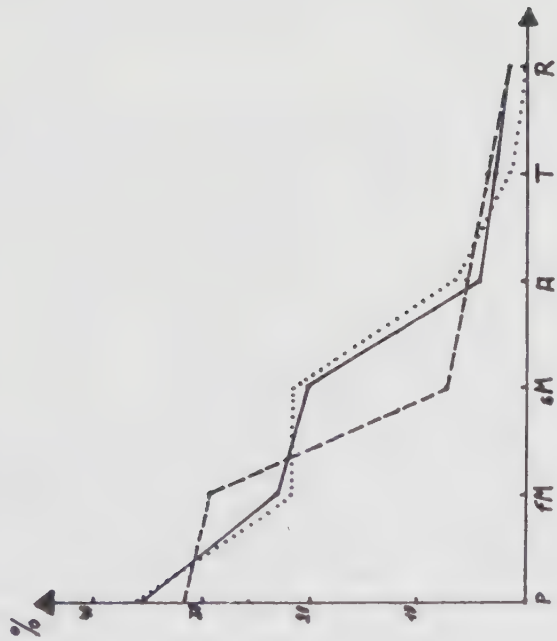
A = Anaphase

T = Telophase

R = Rekonstruktionsphase

Ordinate : prozentualer Anteil der Mitosephasen

Karyologische Kurven



— ohne Zusatz (Kontrolle)

Abb. 6 : Zusatz: S-Serum

----- Zusatz: F-Serum

B. Die Ergebnisse der zweiten Gruppe

Mit Hilfe der alpha-Naphthylacetat-Esterasefärbung sind nach Auszählung der Knochenmarkpräparate Aktivitätsindices berechnet worden. Jeweils nach den Übersichtstabellen der Versuche I, II und III, in denen die Zellzahlen und die errechneten Indices angegeben sind, folgt eine Abbildung, welche die Änderung der Esteraseindices im Verlauf der Kultivierung deutlichkeitshalber für die verschiedenen Zellarten bei den einzelnen Patienten graphisch darstellt.

Die durchgezogene waagerechte Leitlinie zeigt den vollen Indexwert 100 bzw. 200 und 300, in dessen Nähe sich die festgestellten Aktivitätswerte der alpha-Naphthylacetat-Esterase der betreffenden Zellgruppen bewegen. 10 mm Abweichung von der Waagerechten entspricht einem um 10 veränderten Indexwert. Die Aufteilung durch die senkrechten Linien bedeutet für jede Gruppe von links nach rechts: im ersten Feld der Originalausstrich, darauf folgend die Kulturausstriche nach 24, 48 und 72 Stunden.

Die Zellarten, deren Aktivität auch während der Kultivierungsphase in den Kontroll- und in den Zusatzpräparaten gleichbleibt, sind nicht graphisch dargestellt. Das sind im Versuch I die Proerythroblasten, Metamyelocyten, Lymphocyten und Plasmazellen mit dem konstanten Index 100, sowie die Retikulumzellen mit dem Index 300. Ihre gleichbleibenden Indices liegen auf einer Geraden. In den Versuchen II und III ist der Index 100 bei den Proerythroblasten, Myeloblasten, Metamyelocyten, Stabkernigen, Segmentkernigen, Lymphocyten, Plasmazellen und der Index 300 bei den Retikulumzellen über 72 Stunden unverändert.

Tabelle 8 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch I - Kontrolle

	<u>Original</u>	<u>24. Stunden</u>	<u>48. Stunden</u>	<u>72. Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proehl. :	25(1) ^x 100	4(1) 100	3(1) 100	1(1) 100
Ebl. :	160(1) 103 5(2)	162(1) 105,3 9(2)	197(1) 103,9 8(2)	209(1) 100
Myel. :	21(1) 100	17(1) 100	24(1) 100	16(1) 100
Promyc. :	189(1) 107,3 15(2)	227(1) 105,8 14(2)	178(1) 104,8 9(2)	129(1) 100
Myeloc. :	76(1) 100	88(1) 100	62(1) 100	67(1) 100
Metamyc. :	89(1) 100	79(1) 100	98(1) 100	105(1) 100
Stabk. :	157(1) 100	131(1) 100	160(1) 100	120(1) 100
Segmk. :	97(1) 100	88(1) 100	93(1) 100	102(1) 100
Promono. :	6(2) 245,5 5(3)	10(2) 216,7 2(3)	23(2) 214,8 4(3)	33(2) 208,3 3(3)
Monoc. :	19(3) 352,6 20(4)	16(3) 351,5 17(4)	21(3) 334,4 11(4)	49(3) 322,2 14(4)
Gmphot. :	101(1) 100	125(1) 100	79(1) 100	132(1) 100
etikhz. :	15(3) 300	12(3) 300	26(3) 300	18(3) 300
Plasmaz. :	5(1) 100	5(1) 100	5(1) 100	4(1) 100
esamt :	1004	1006	1001	1002

Die zwischen der Zellzahl und dem Index in Klammern gesetzte Ziffern gibt die Reaktionsklasse gemäß des Zellgehalts an alpha-Naphthyl-acetat-Esteraseaktivität an.

Tabelle 9 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch I - Zusatz : S.-Serum

	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl. :	4(1) 100	3(1) 100	1(1) 100
Ebl. :	170(1) 109,1 17(2)	156(1) 110,3 18(2)	164(1) 108,4 15(2)
Mybl. :	17(1) 115 3(2)	13(1) 113,3 2(2)	12(1) 100
Promyc. :	161(1) 121,1 43(2)	168(1) 114,3 28(2)	178(1) 105,3 10(2)
Myeloc. :	59(1) 114,5 10(2)	67(1) 109,5 7(2)	75(1) 100
Metamyc.:	77(1) 100	90(1) 100	79(1) 100
Stabk. :	100(1) 113 15(2)	137(1) 116,5 27(2)	137(1) 100
Segmk. :	85(1) 108,6 8(2)	113(1) 108,9 11(2)	121(1) 100
Promono.:	7(2) 253,3 8(3)	2(2) 236,8 7(3)	7(2) 222,2 2(3)
Monoc. :	26(3) 375 78(4)	51(3) 337,8 31(4)	39(3) 330,4 17(4)
Lymphoc.:	155(1) 100	95(1) 100	138(1) 100
Retikz. :	18(3) 300	19(3) 300	13(3) 300
Plasamaz:	4(1) 100	2(1) 100	2(1) 100
Gesamt :	1065	1047	1010

Tabelle 10 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch I - Zusatz : F.-Serum

		<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
		<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl.	:	5(1) 100	4(1) 100	
Ebl.	:	188(1) 105,5 11(2)	213(1) 100	218(1) 100
Mybl.	:	12(1) 100	12(1) 100	17(1) 100
Frömyc.	:	196(1) 116,6 39(2)	206(1) 105,1 11(2)	201(1) 100
Kyoloc.	:	70(1) 107,9 6(2)	91(1) 100	65(1) 100
Metamyc.	:	69(1) 100	104(1) 100	84(1) 100
Stabk.	:	140(1) 100	138(1) 100	127(1) 100
Begmk.	:	112(1) 100	95(1) 100	92(1) 100
Promono.	:	10(2) 228 4(3)	17(2) 210,5 2(3)	17(2) 205,5 1(3)
Monoc.	:	10(3) 368,8 22(4)	25(3) 330,6 11(4)	40(3) 316,7 8(4)
Lymphoc.	:	122(1) 100	89(1) 100	140(1) 100
Retik.	:	7(3) 300	14(3) 300	10(3) 300
Plasraz.	:	6(1) 100	8(1) 100	5(1) 100
Gesamt	:	1035	1040	1025

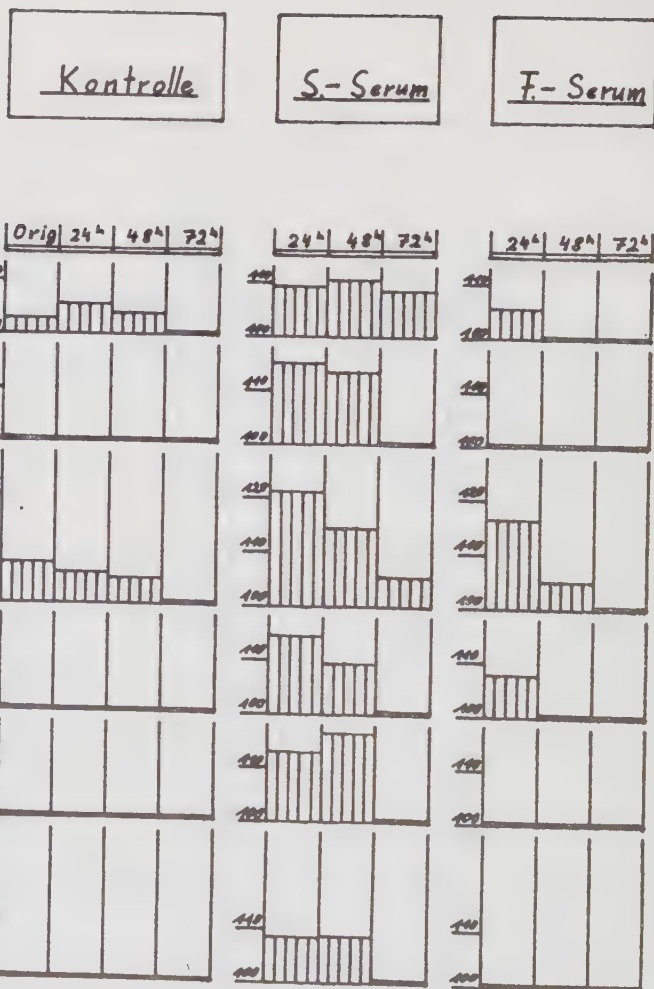


Abb. 7: Esteraseindizes von Versuch I — Original- und Kulturpräparate

Kontrolle

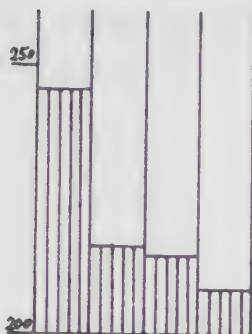
S-Serum

F-Serum

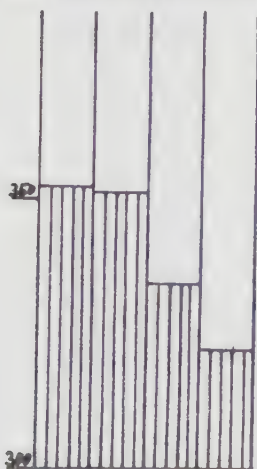
Orig 24h 48h 72h

24h 48h 72h

24h 48h 72h



Promonocyten



Monocyten

Tabelle 11 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch II - Kontrolle

	<u>Original</u>	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl. :	30(1) 100	18(1) 100	5(1) 100	_____
Ebl. :	144(1) 107,1 11(2)	171(1) 103,9 7(2)	195(1) 100	159(1) 100
Mybl. :	15(1) 100	17(1) 100	14(1) 100	5(1) 100
Promyc. :	127(1) 108 11(2)	130(1) 105,8 17(2)	125(1) 104,6 6(2)	126(1) 103,1 4(2)
Myeloc. :	92(1) 112,4 13(2)	101(1) 107,3 8(2)	132(1) 100	142(1) 100
Metamyc.:	113(1) 100	104(1) 100	110(1) 100	127(1) 100
Stabk. :	150(1) 100	134(1) 100	138(1) 100	137(1) 100
Segmk. :	129(1) 100	135(1) 100	121(1) 100	128(1) 100
Pronono.:	2(2) 271,4 5(3)	1(2) 275 3(3)	2(2) 250 2(3)	2(2) 233,3 1(3)
Monoc. :	23(3) 339,5 15(4)	29(3) 312,1 4(4)	24(3) 311,1 3(4)	33(3) 300
Lymphoc.:	104(1) 100	119(1) 100	111(1) 100	127(1) 100
Retikz. :	9(3) 300	5(3) 300	8(3) 300	6(3) 300
Plasmaz.:	7(1) 100	7(1) 100	5(1) 100	4(1) 100
Gesamt :	1000	1010	1001	1001

Tabelle 12 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch II - Zusatz : S.-Serum

	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proehl.	: 21(1) 100	8(1) 100	1(1) 100
Ehl.	: 134(1) 109,5 14(2)	142(1) 108,4 13(2)	161(1) 100
Mybl.	: 14(1) 100	13(1) 100	9(1) 100
Promyc.	: 148(1) 109,6 16(2)	133(1) 108,9 13(2)	123(1) 102,4 3(2)
Myeloc.	: 106(1) 110,9 13(2)	135(1) 103,6 5(2)	139(1) 100
Metamyc.	: 115(1) 100	114(1) 100	132(1) 100
Stabk.	: 122(1) 100	128(1) 100	131(1) 100
Segmk.	: 125(1) 100	117(1) 100	120(1) 100
Promono.	: 1(2) 280 4(3)	1(2) 275 3(3)	1(2) 250 1(3)
Monoc.	: 33(3) 331,3 15(4)	36(3) 329,4 15(4)	35(3) 312,5 5(4)
Lymphoc.	: 125(1) 100	127(1) 100	127(1) 100
Retikz.	: 8(3) 300	9(3) 300	6(3) 300
Plasmaz.	: 6(1) 100	8(1) 100	6(1) 100
Gesamt	: 1020	1020	1000

Tabelle 13 : Zellzahlen und Esteraseindizes
von Versuch II - Zusatz : F.-Serum

	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl.	: 27(1) 100	4(1) 100	1(1) 100
Ebl.	: 185(1) 105,1 10(2)	205(1) 104,2 9(2)	199(1) 100
Mybl.	: 15(1) 100	10(1) 100	8(1) 100
Promyc.	: 141(1) 106 9(2)	115(1) 108 10(2)	111(1) 102,6 3(2)
Myeloc.	: 111(1) 108,2 10(2)	134(1) 100	140(1) 100
Metamyc.	: 112(1) 100	127(1) 100	122(1) 100
Stabk.	: 123(1) 100	132(1) 100	127(1) 100
Segmk.	: 80(1) 100	94(1) 100	126(1) 100
Promono.	: 2(2) 271,4 5(3)	2(2) 260 3(3)	3(2) 225 1(3)
Monoc.	: 25(3) 324,2 8(4)	17(3) 310,5 2(4)	24(3) 300
Lymphoc.	: 117(1) 100	120(1) 100	126(1) 100
Retikz.	: 10(3) 300	6(3) 300	7(3) 300
Plasmaz.	: 10(1) 100	10(1) 100	7(1) 100
Gesamt	: 1000	1000	1005

Kontrolle

S-Serum

F-Serum

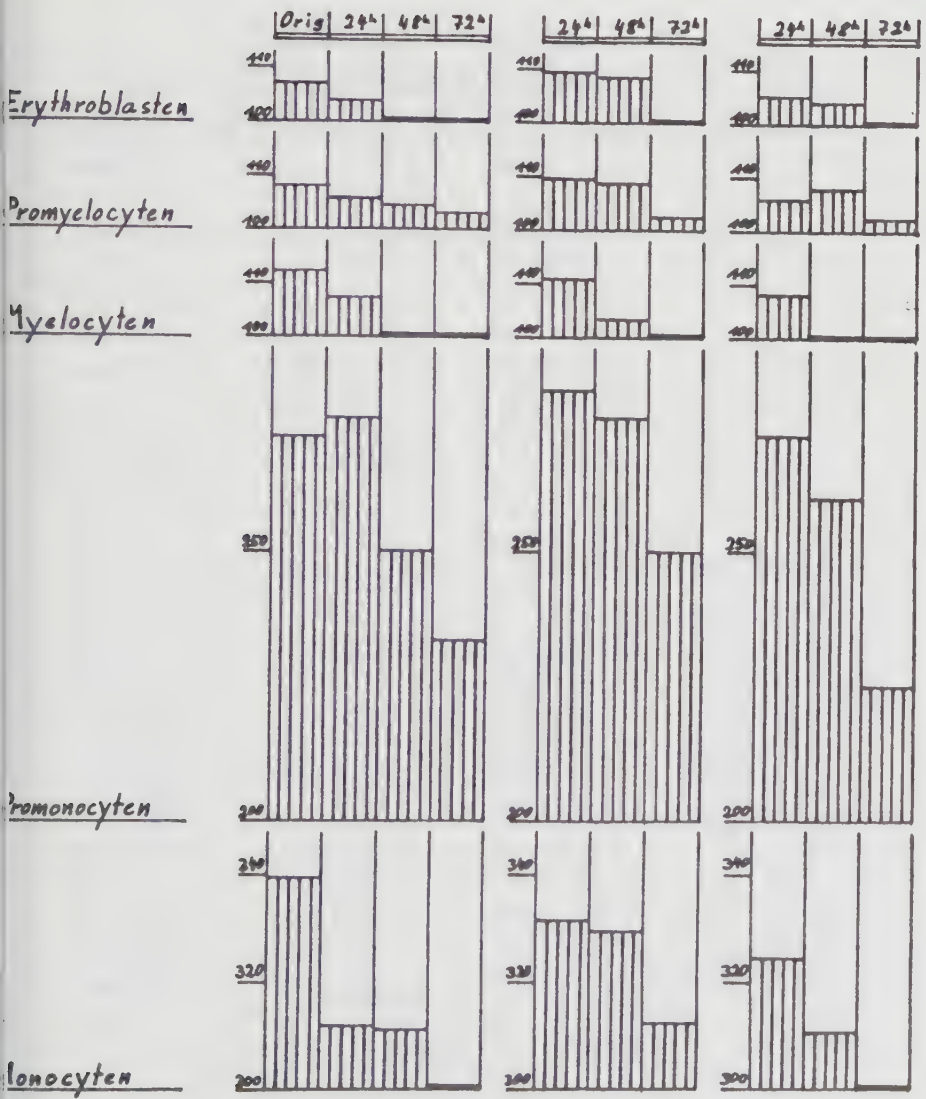


Abb. 9: Esteraseindizes von Versuch II — Original- und Kulturpräparate

Tabelle 14 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch III - Kontrolle

	<u>Original</u>	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl. :	14(1) 100	7(1) 100	8(1) 100	1(1) 100
Ebl. :	125(1) 110,1 14(2)	130(1) 106,5 9(2)	142(1) 100	158(1) 100
Mybl. :	16(1) 100	11(1) 100	6(1) 100	6(1) 100
Promyc. :	143(1) 109,5 15(2)	161(1) 106,9 12(2)	167(1) 105,1 8(2)	148(1) 100
Myeloc. :	88(1) 113,7 14(2)	101(1) 110,6 12(2)	127(1) 108 11(2)	137(1) 106,2 9(2)
Metamyc.:	127(1) 100	120(1) 100	111(1) 100	112(1) 100
Stabk. :	154(1) 100	143(1) 100	138(1) 100	149(1) 100
Segmk. :	135(1) 100	110(1) 100	108(1) 100	112(1) 100
Promono.:	3(2) 257,1 4(3)	5(2) 250 5(3)	3(2) 240 2(3)	2(2) 233,3 1(3)
Monoc. :	8(3) 366,6 16(4)	10(3) 364,3 18(4)	9(3) 359,1 13(4)	8(3) 355,5 10(4)
Lymphoc.:	109(1) 100	127(1) 100	132(1) 100	132(1) 100
Retikz. :	10(3) 300	8(3) 300	8(3) 300	8(3) 300
Plasmaz.:	15(1) 100	11(1) 100	7(1) 100	8(1) 100
Gesamt :	1010	1000	1000	1001

Tabelle 15 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch III - Zusatz : S.-Serum

	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl.	: 10(1) 100	10(1) 100	2(1) 100
Ebl.	: 100(1) 113,8 16(2)	98(1) 112,5 14(2)	131(1) 100
Mybl.	: 15(1) 100	11(1) 100	3(1) 100
Promyc.	: 172(1) 112,7 25(2)	162(1) 112 22(2)	155(1) 100
Myeloc.	: 109(1) 115,5 20(2)	115(1) 113,5 18(2)	129(1) 113,4 20(2)
Metamyc.	: 104(1) 100	113(1) 100	122(1) 100
Stabk.	: 138(1) 100	138(1) 100	143(1) 100
Segmk.	: 107(1) 100	118(1) 100	124(1) 100
Promono.	: 4(2) 260 6(3)	2(2) 260 3(3)	1(2) 250 1(3)
Monoc.	: 9(3) 374,3 26(4)	15(3) 361,5 24(4)	7(3) 366,6 14(4)
Lymphoc.	: 116(1) 100	128(1) 100	135(1) 100
Retikz.	: 13(3) 300	8(3) 300	7(3) 300
Plasmaz.	: 15(1) 100	11(1) 100	6(1) 100
Gesamt	: 1005	1010	1000

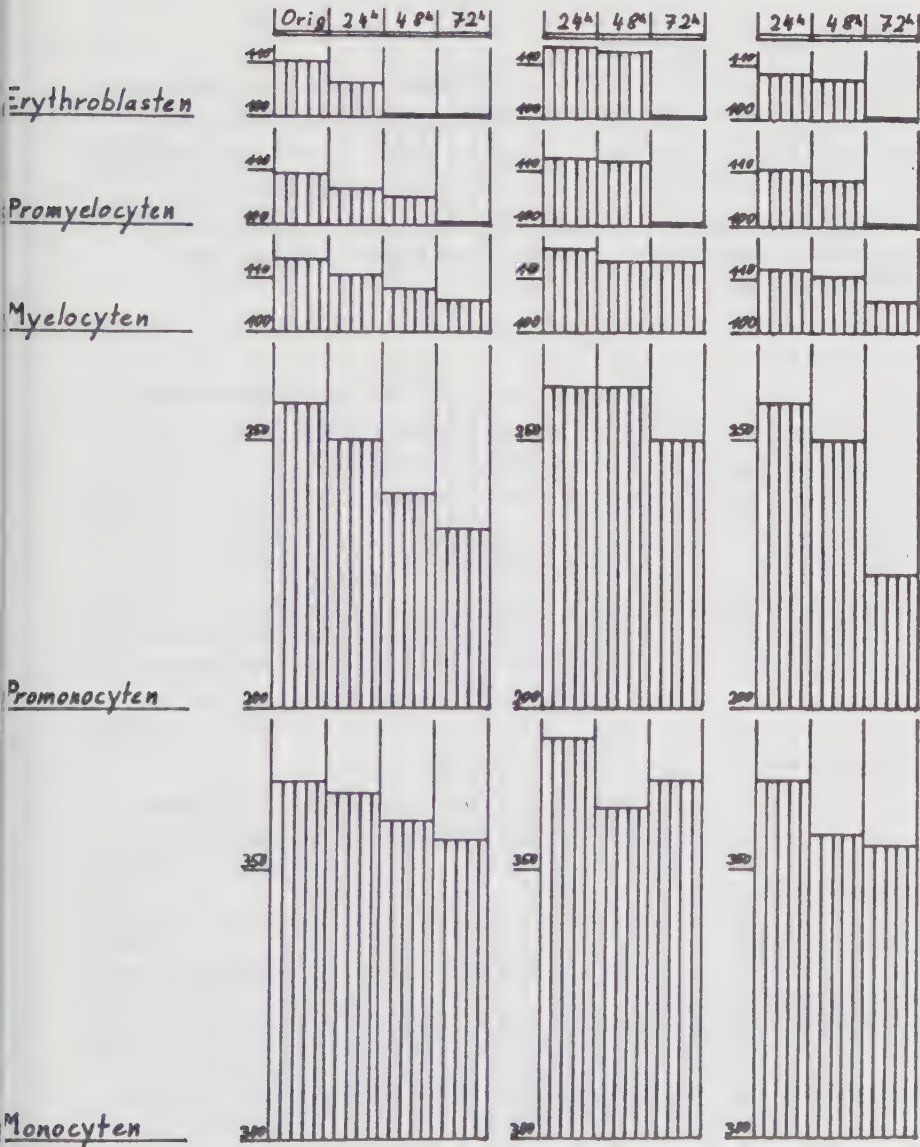
Tabelle 16 : Zellzahlen und Esteraseindices
von Versuch III - Zusatz : F.-Serum

	<u>24 Stunden</u>	<u>48 Stunden</u>	<u>72 Stunden</u>
	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>	<u>Zellzahl/Index</u>
Proebl. :	9(1) 100	4(1) 100	1(1) 100
Ebl. :	97(1) 108,5 9(2)	108(1) 107,7 9(2)	130(1) 100
Mybl. :	15(1) 100	9(1) 100	5(1) 100
Promyc. :	170(1) 110,5 20(2)	164(1) 108,4 15(2)	156(1) 100
Myeloc. :	109(1) 112,1 15(2)	124(1) 110,8 15(2)	151(1) 106,2 10(2)
Metamyc. :	114(1) 100	107(1) 100	116(1) 100
Stabk. :	151(1) 100	139(1) 100	135(1) 100
Segmk. :	121(1) 100	120(1) 100	121(1) 100
Promono. :	3(2) 257,1 4(3)	3(2) 250 3(3)	3(2) 225 1(3)
Monoc. :	8(3) 366,7 16(4)	17(3) 356,6 13(4)	10(3) 354,5 12(4)
Lymphoc. :	115(1) 100	130(1) 100	128(1) 100
Retikz. :	11(3) 300	9(3) 300	11(3) 300
Plasmaz. :	13(1) 100	11(1) 100	10(1) 100
Gesamt :	1000	1002	1000

Kontrolle

S-Serum

F-Serum



7bb.10 : Esteraseindices von Versuch III — Original- und Kulturpräparate

Signifikanzberechnung

a) Gesamtteraseindices

Für die 24, 48 und 72 Stundenkulturen sind in allen drei Versuchen Gesamtindices der Esteraseaktivität berechnet worden (BOLL und SCHARIOT, 1970). Dabei findet das gleiche Verfahren Anwendung, wie es bei den Einzelindices beschrieben worden ist. Es werden alle Zellen eines Ausstriches herangezogen, jedoch ohne Unterscheidung der Reifungsstufen.

Versuch I:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.
	S.S.		S.S.		S.S.	
Gesamtindex aller differenz. Zellen	114,3	141,4	117,5	132,7	121,2	118,9
Gesamtindex der Granulopoese	116,1	155,7	116,8	137,9	128,1	122,2
Gesamtindex der sonstigen Zellen	110,4	114,4	118,9	119,1	109,1	112,3
	$\chi^2 = 2,087$		$\chi^2 = 2,302$		$\chi^2 = 0,172$	
	$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$	

Versuch II:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.
	S.S.		S.S.		S.S.	
Gesamtindex aller differenz. Zellen	111,8	117,1	108,5	117,0	108,6	110,3
Gesamtindex der Granulopoese	114,9	120,9	110,2	119,9	110,5	113,0
Gesamtindex der sonstigen Zellen	105,2	108,1	104,9	110,1	104,1	104,0
	$\chi^2 = 0,017$		$\chi^2 = 0,038$		$\chi^2 = 0,015$	
	$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$	

Versuch III:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.
Gesamtindex aller differenz. Zellen	113,8	119,8	109,9	117,8	107,5	109,3
Gesamtindex der Granulopoese	116,0	121,4	111,8	120,2	108,5	110,9
Gesamtindex der sonstigen Zellen	108,6	115,6	105,4	111,2	105,2	105,0
	$\chi^2 = 0,008$		$\chi^2 = 0,011$		$\chi^2 = 0,017$	
	$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$	

Die Gegenüberstellung der Kontrollkulturen und der S.-Serum-zusätze zeigen in der Auswertung durch die χ^2 -Kontingenz keine signifikanten Unterschiede. Die in den Zusatzkulturen erhöhten Esteraseindices reichen zur Ablehnung der Nullhypothese nicht aus.

b) Monocytaire Zellen

Eine weitere Signifikanzberechnung ist für die Anzahl der monocytären Zellen in den drei Versuchen angefertigt worden.

Versuch I:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.	Kontr.	Zus. S.S.
Gesamtzahl der Granulopoese	689	697	683	754	638	677
monocytaire Zellen	45	119	59	91	99	65
sonst. Zellen d. Granulopoese	644	578	624	663	539	612
	$\chi^2 = 36,910$		$\chi^2 = 14,511$		$\chi^2 = 10,531$	
	$\alpha < 0,01$		$\alpha < 0,01$		$\alpha < 0,01$	

Versuch II:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.
	S.S.		S.S.		S.S.	
Gesamtzahl d. Granulopoese	683	712	677	713	705	699
monocytäre Zellen	37	53	31	55	36	42
sonst. Zellen d. Granulopoese	646	659	646	658	669	657
	$\chi^2 = 2,372$		$\chi^2 = 5,880$		$\chi^2 = 0,545$	
	$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$	

Versuch III:

	24 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.	Kontr.	Zus.
	S.S.		S.S.		S.S.	
Gesamtzahl d. Granulopoese	708	735	703	741	694	791
monocytäre Zellen	38	45	27	44	21	23
sonst. Zellen d. Granulopoese	670	690	676	697	673	696
	$\chi^2 = 0,379$		$\chi^2 = 3,394$		$\chi^2 = 1,680$	
	$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$		$\alpha > 0,01$	

Die Werte der monocytären Zellen in Versuch I sind nach 24, 48 und 72 Stunden signifikant von Null verschieden, die Nullhypothese wird verworfen. In den Versuchen II und III besteht zwischen den verglichenen Werten kein signifikanter Unterschied, sie stützen die Nullhypothese.

Zusammenfassung der Ergebnisse von Gruppe B
(alpha-Naphthylacetat-Esterasefärbung)

Alle differenzierten Zellen der Ausstrichpräparate zeigen eine nachweisbare Aktivität von alpha-Naphthylacetat-Esterase (Abb. 7, 8, 9, 10). Die höchsten Indexwerte sind wie zu erwarten bei den Promonocyten, Monocyten und Retikulumzellen zu verzeichnen. Während sich der Aktivitätsgrad bei den Retikulumzellen in allen drei Versuchen nicht verändert und den konstanten Wert von 3 beibehält, sind bei den monocytären Zellen Schwankungen zu beobachten. Das Bild ist einheitlich: In den Originalpräparaten und zu Beginn der Inkubation nach 24 Stunden sind die Esteraseindices am höchsten, sie liegen bei den Promonocyten zwischen 220-280, bei den Monocyten treten Werte zwischen 320-375 auf. Im weiteren zeitlichen Verlauf der Kultivierung fallen die Esteraseindices ab. Bei den übrigen Zellarten findet man derartige Schwankungsbreiten und Aktivitätsgrade dieser Größe nicht mehr. Alle Zellen der roten Reihe sind gekennzeichnet durch Aktivitätsgrade, die meistens bei 1 liegen, selten wird die Stufe 2 erreicht. Die Indexwerte bewegen sich im Bereich 100-110. Die Proerythroblasten verlassen das Indexniveau 100 nicht, die Fermentaktivität in diesen Zellen ist konstant. Zu der Gruppe der Zellen, die den gleichbleibenden Index von 100 während der Kultivierungsphase beibehalten, gehören außerdem die Metamyelocyten, Lymphocyten und Plasmazellen; mit nur zwei Ausnahmen in Versuch I (Abb. 7) zählen auch die Myeloblasten, Stabkernigen und Segmentkernigen dazu. Bei den Promyelocyten schwanken die Indexwerte zwischen 100-120. Ähnlich verhält es sich bei den Myelocyten, die Indices liegen zwischen 100-115.

Insgesamt ist festzustellen, daß die im Originalpräparat vorhandenen esterasepositiven Zellen während der Inkubationsdauer über 72 Stunden alle positiv bleiben. In den

Kontrollkulturen liegen konstante Aktivitäten der alpha-Naphthylacetat-Esterase vor, mit geringfügigen Abweichungen bei den Erythroblasten, Promyelocyten und Myelocyten; die Promonocyten und Monocyten weisen deutlichere Aktivitäten und auch größere Schwankungen in der Kultivierungszeit auf.

Beim Zusatz S.-Serum ist während der Bebrütungsdauer eine stärkere Fermentaktivität als in der Kontrolle zu sehen; das gilt sowohl für die Zellen der roten Reihe als auch für die der weißen Reihe. Hier treten in Versuch I das einzige Mal auch die Myeloblasten, Stabkernigen und Segmentkernigen mit erhöhter Indices in Erscheinung. Nach Berechnung von Gesamtesteraseindices ergaben sich jedoch in der statistischen Auswertung beim Vergleich von Kontroll- und Zusatzkulturen keine signifikanten Abweichungen. Die Fermentaktivität in den Zellen zeigt somit ein stabiles Verhalten.

Bei der Gegenüberstellung der monocytären Zellen in der Kontrolle und bei dem Zusatz S.-Serum ergeben sich in Versuch I nach 24, 48 und 72 Stunden signifikante Abweichungen. Damit wird das durch die Pappenheimfärbung erbrachte Ergebnis gestützt.

Beim Zusatz F.-Serum erreichen die Indexwerte zwar nicht die Größe des Zusatzes S.-Serum, sind aber auch höher als die der Kontrolle, teilweise mit diesen auf dem gleichen Niveau. Die Tendenz der Aktivitäten der alpha-Naphthylacetat-Esterase in den Zellen der Erythropoese und Granulopoese ist absteigend während der Kultivierungsphase. Die Indices der Zellen, die über die Zeit von 72 Stunden konstant bleiben, liegen auf einer Geraden.

D_I_S_K_U_S_S_I_O_N

Der Einfluß von Seren zweier Patienten, die an chronischer myelo-monocytärer Leukämie erkrankt sind, wird auf die Proliferationskinetik des Knochenmarks hämatologisch gesunder Patienten untersucht. Die Ergebnisse werden durch Differential- und Mitosezählungen an nach Pappenheim gefärbten Präparaten und Indices der unspezifischen Esterase-reaktion mit alpha-Naphthylacetat (LÖFFLER, 1961) erbracht. Zwei wesentliche Fragen sind zu beantworten:

A) Stimuliert der Zusatz von Seren bei myelo-monocytärer Leukämie zu normalem menschlichen Knochenmark die Entwicklung von monocytären Zellen, und B) kommt es dabei zu einer Vermehrung der Esteraseaktivität in den Zellen? Außerdem werden die Reifung und die Regeneration der Erythropoese und Granulopoese in vitro geprüft; dabei wird die Reifung durch die G/E-Indices und Reifungskurven, die Regeneration durch die Mitoseindices und die karyologischen Kurven verdeutlicht.

Während der Kultivierungsdauer von drei Tagen zeigt sich in den drei Kontrollkulturen eine zunehmende Ausreifung in der Erythropoese, wie es auch BOLL und MERSCH (1968) schildern. Ferner ist am steigenden G/E-Index eine Verminderung der Erythroblasten zu erkennen, was durch die vermehrte Ausreifung zu Erythrocyten zu erklären ist. Durch Zusatz von Seren bei myelo-monocytärer Leukämie ist die Erythroblastenausreifung in den Kulturen nach 24 Stunden verzögert, während sie nach 48 Stunden verstärkt in Erscheinung tritt. Die Mitoseindices zeigen mit zunehmender Kulturdauer in Kontrollen und Zusätzen eine rückläufige Tendenz. Wegen der in zu geringer Anzahl aufgetretenen Mitosen der teilungsfähigen Erythroblasten kann über die Mitosephasenverteilung durch die karyologischen Kurven keine Aussage gemacht werden.

In der Granulopoese tritt am Anfang der Kultivierungsphase in den Kontrollkulturen eine Vermehrung der teilungsfähigen Zellen auf, während es bei den Segmentkernigen entsprechend ihrer kurzen Lebensdauer zu einer Abnahme kommt (BOLL und MERSCH, 1969).

Durch Zusatz der Seren von Patienten mit chronischer myelo-monocytärer Leukämie sind keine einheitlichen Verlaufsveränderungen in der Differentialverteilung bis zu 72 Stunden festzustellen. Ähnlich wie bei der Reifung verhält es sich bei den Mitoseindices und den karyologischen Kurven, es ist kein wesentlicher Unterschied zwischen Zusatzkulturen und Kontrollen zu beobachten. In allen drei Versuchen verursacht jedoch der Zusatz von S.-Serum zu allen Zeiten während der Kulturdauer von drei Tagen eine Vermehrung der Monocyten. Dabei sind in Versuch I die Ergebnisse durch Signifikanzberechnung statistisch gut gesichert, in den beiden anderen Versuchen reicht die Vermehrung zur Ablehnung der Nullhypothese nicht aus. Eine derartige Zunahme der monocytären Zellen kann dagegen bei dem Zusatz von F.-Serum nicht beobachtet werden.

SEIFERT (1975) berichtete über die Einwirkung von Serum einer an infektiöser Mononucleose (Morbus Pfeiffer) erkrankten Frau auf menschliches Knochenmark in vitro. Dabei kommt es zu einer deutlichen Vermehrung der Promonocyten. Es wird angenommen, daß eine Infektion der Knochenmarkkulturen durch die im Mononucleose-Serum enthaltenen Epstein-Barr-Viren stattgefunden hat, und das Knochenmark mit einer Überproduktion an Promonocyten darauf antwortet. Ebenso weist NIEDERDRÄING durch Zugabe eines Serums von chronischer Monocytenleukämie eine Vermehrung der monocytären Zellen in heterologen Knochenmarkzellen nach. Die Frage, inwieweit Seren chronischer myelo-monocytärer Leukämien die Proliferation des normalen Knochenmarks in vitro beeinflussen können, wurde bisher wenig untersucht.

Die signifikanten Ergebnisse von NIEDERDRÄING, die ihre Versuche am Pappenheimpräparat durchgeführt hat, sollten hier durch die Esterasereaktion mit alpha-Naphthylacetat neben der Pappenheimfärbung bestätigt werden. Das trifft jedoch nur für einen der drei Versuche (I) zu. Hier wird die signifikante Vermehrung der monocytären Zellen im Pappenheimpräparat durch die unspezifische Esterasereaktion bestätigt. Dabei zeigen die durch die Fermentreaktion gefärbten Präparate nach dem Zusatz von S.-Serum im Vergleich zu den Kontrollkulturen ebenfalls eine deutliche Zunahme der monocytären Zellen. Die Signifikanz dieses Ergebnisses verdeutlicht die statistische Berechnung nach dem χ^2 - Kontingenzverfahren.

Zur Enzymaktivität in den Zellen kann festgestellt werden, daß in allen differenzierten Knochenmarkzellarten die alpha-Naphthylacetat-Esterase in unterschiedlicher Intensität nachzuweisen ist (WACHSTEIN und WOLF, 1958; LÖFFLER und SCHUBERT, 1959; SCHRÖDER, 1960; SCHÜMMELFEDER, 1961; LÖFFLER, 1962; KAHN, 1965; MERKER, 1963; LORBACHER, 1967). Die Stärke der Farbstoffpräcipitate wird in der Literatur nach Aktivitätsstufen von 0 bis 4 eingeteilt (KAPLOW, 1955; ROZENSZJN, 1963), während Indexangaben selten zu finden sind. Die bei SCHARIOT (1969) sowie BOLL und SCHARIOT (1970) angegebenen Indexwerte für die unspezifische Esteraseaktivität im Knochenmarkausstrich und in den Kulturen stimmen mit den bei gleicher Methode gefundenen Werten für die Kontrollkulturen überein.

Insgesamtgesehen ist zu bemerken, daß die Seren von chronischen myelo-monocytären Leukämien eine geringere Vermehrung der monocytären Zellen im Knochenmarkausstrich bewirken als das Serum einer chronischen Monocytenleukämie. Die Ergebnisse von NIEDERDRÄING werden nur in Versuch I sowohl durch die Pappenheimfärbung als auch durch die unspezifische Esterasereaktion bestätigt. Die Fermentaktivität zeigt in vielen Zellen unter dem Einfluß der Serenzusätze

eine leichte Zunahme (Abb.7-10), jedoch liegen keine signifikanten Resultate vor, wie es nach der Erstellung von Gesamtesteraseindices mit statistischer Auswertung ersichtlich ist. Die unspezifische Esteraseaktivität weist somit ein verhältnismäßig stabiles Verhalten auf. Zu dem gleichen Ergebnis führten auch die Untersuchungen von BOLL (1969), BOLL und SCHARIOT (1970) und RAFTOPOULOU (1975).

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Wirkung von Seren zweier Patienten, die an chronischer myelo-monocytärer Leukämie erkrankt sind, wird am Knochenmark von drei hämatologisch gesunden Patienten in vitro untersucht. Die eine Hälfte der Präparate ist nach der Pappenheimmethode, die andere durch die unspezifische Esterasereaktion mit alpha-Naphthylacetat gefärbt. Zur Ermittlung vergleichender quantitativer Aussagen über die Enzymaktivitätsgrade ist das von KAPLOW (1955) angegebene Verfahren in modifizierter Form übernommen worden. In Koagulumkulturen nach BOLL erfolgt die Inkubation des Knochenmarks der drei Patienten mit und ohne Zusatz der Seren. Anhand der Ergebnisse der Differentialzählungen nach O, 24, 48 und 72 Stunden werden Reifungskurven, Mitose-Indices, G/E-Indices, karyologische Kurven und Esterase-Indices dargestellt.

Beim Zusatz der Seren beider Patienten kann gegenüber den Kontrollkulturen keine wesentliche Abweichung beobachtet werden. Der Anteil der monocytären Zellen erfährt nur in einer der drei Kulturen nach Zusatz des einen Serums eine Steigerung. Diese nach 24, 48 und 72 Stunden auftretende Vermehrung ist im Pappenheimpräparat zu beobachten und wird auch mit der unspezifischen Esterasereaktion nachgewiesen. Die Ergebnisse sind statistisch gut gesichert. Die Aktivität der alpha-Naphthylacetat-Esterase ist in unterschiedlicher Intensität in allen differenzierten Knochenmarkszellen nachweisbar. Für jede Zellart ist ein Index errechnet worden, der die Enzymaktivität wiedergibt. Eine Anregung der unspezifischen Esteraseaktivität durch die Serenzusätze ist erkennbar, erweist sich jedoch in der statistischen Berechnung als nicht signifikant. Die Fermentreaktion in den Zellen zeigt, wie auch von anderen Verfassern angegeben, somit ein relativ konstantes Verhalten.

L I T E R A T U R

1. BAKALIOS, D. u. P. PETROPOULOS: The nonspecific esterase activity of the monocyte. A further contribution of the myeloid origin of the monocyte.
Blut 9, 7 (1963)
2. BEGEMANN, H. : Klinische Hämatologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1975)
3. BELITZ, H.-J. : Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie, Sonderdruck aus " Der Mathematikunterricht"
Klett, Stuttgart, Heft 3, (1960)
4. BOLL, I. u. G. FUCHS: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von Knochenmark in vitro
Blut VII, 257 (1961)
5. BOLL, I. : Granulopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen
Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York (1966)
6. BOLL, I. u. G. MERSCH: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro
Blut XVII, 193 (1968)
7. BOLL, I. u. G. MERSCH: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulopoese in vitro
Blut XIX, 257 (1969)
8. BOLL, I., B. HEYER, G. DÜRING, G. SCHARIOT, H. BRUNS, u. E. SCHWEIHOFFER: Quantitative Ermittlung des Fermentgehaltes und der PAS-positiven Substanzen von Knochenmarkszellen in vitro und in vivo
Klin. Wschr. 48, 1233 (1970)
9. BOLL, I. : Leitfaden der cytologischen Knochenmark-Diagnostik
J. F. Lehmanns Verlag, München (1973)
10. BOLL, I. : Granulopoese - Morphologie, Physiologie, Kinetik und Funktion
Handbuch der Inneren Medizin, herausgegeben von H. Begemann, Band II, 3
Springer Verlag: Berlin (1976)

11. BRÜCHER, H. : Der Monocyt
J. F. Lehmanns Verlag München (1969)
12. EDER, M. : Cytochemie und Tumorpathologie
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 42, 374 (1958)
13. FISCHER, R. u. F. SCHMAIZL: Über die Hemmbarkeit der
Esteraseaktivität in Blutmonocyten durch
Natriumfluorid
Klin. Wschr. 42, 751 (1964)
14. FUCHS, G. : Mathematik für Mediziner und Biologen
Springer: Berlin (1969)
15. v. FURTH, R. : The origin and turnover of promonocytes,
monocytes and macrophages in normal mice
Mononuclear Phagocytes, edited by Ralph
van Fuerth
Blackwell scientific publications, Oxford
and Edinburgh (1970)
16. GÖSSNER, W. : Histochemischer Nachweis hydrolytischer
Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode.
Untersuchungen zur Methodik und vergleichenden
Histotropik der Esterasen und
Phosphatasen bei Wirbeltieren.
Histochemie 1, 48 (1958)
17. GÖSSNER, W. : Methodische Grundlagen der Zyto- und
Histochemie hydrolytischer Enzyme
Zyto- und Histochemie in der Hämatologie,
9. Freiburger Symp. S.217, Hrsg.H.Merker,
Springer: Berlin (1963)
18. HECKNER, F. : Der myeloische Monocyt bei konventio-
neller morphologischer Diagnostik
Der Monocyt, hrsg. von H. Brücher, J.F.
Lehmanns Verlag München (1969)
19. HITTMAIR, A. : Die myeloische Monocytenleukämie (Mono-
cytenmyelose)
Handbuch der gesamten Hämatologie
Herausgegeben von L. Heilmeyer und
A. Hittmair
Band IV, Teil 2
Urban und Schwarzenberg, München-
Berlin (1963)
20. KÄHN, P. : Cytochemische Untersuchungen bei akuten
Leukosen
Klin. Wschr. 43, 1038 (1965)

21. KAPLOW, L. S. : A histochemical procedure for localizing and evaluating leucozyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow
Blood 10, 1023 (1955)
22. KRAUT, H. u. A. WEISCHER: Esterasen
Physiolog. Chemie Bd. I, S. 1070
Hrsg. Flaschenträger und Lehnart, Berlin Springer (1951)
23. LAMBERS, K. u. P. BAUER-SIC: Hydrolytische Enzyme in der klinischen Diagnostik
Dtsch. med. Wschr. 87, 1913 (1962)
24. LEDER, L.-D. : Der Blutmonocyt
Springer Verlag Berlin (1967)
25. LEDER, L.-D. : Die fermenthistochemische Erkennung normaler und neoplastischer Erythropoesezellen in Schnitt und Ausstrich
Blut 15, 289 (1967)
26. LÖFFLER, H. : Cytochemischer Nachweis von unspezifischer Esterase in Ausstrichen
Klin. Wschr. 39, 1220 (1961)
27. LÖFFLER, H. : Enzymcytochemische Befunde bei unreif-zelligen Leukosen
9. Freiburger Symp. S. 275, Hrsg. Merker, Springer (1963)
28. LÖFFLER, H. u. I. C. F. SCHUBERT: Zum histochemischen Nachweis der Esterasen in Zellen des Blutes
Klin. Wschr. 37, 563 (1969)
29. LORBACHER, P. : Zur Anwendung enzymhistochemischer Methoden an biotisch gewonnenem Knochenmarksgewebe
Blut XV, 19 (1967)
30. MERKER, H. : Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen
Zyto- und Histochemie in der Hämatologie, 9. Freiburger Symp. S. 233, Hrsg. Merker, Springer: Berlin (1963)
31. MEURET, G. : Cytochemische und zellkinetische Untersuchungen bei chronischen Erkrankungen des Monocytensystems
Blut XXIV, 226 (1972)

32. MEURET, G. : Die Monocytopoese beim Menschen
Mat. Med. Nordmark 25/3 - 4,92 (1973)
33. MEURET, G. : Das Monocyten-Markophagen-System
In: Handbuch der inneren Medizin, Bd.II,
3, hsg. v. H. Begemann, Springer,
Berlin (1976)
34. NACHLAS, M. u. A. SELIGMAN: Histochemical demonstration
of esterase
J. Nat. Cancer. Inst. 9, 415 (1949)
35. PINEY, A. u. A. BEDER: Akute und subakute Myelose
Handbuch der gesamten Hämatologie
Herausgegeben von L. Heilmeyer und
A. Hittmair
Band IV, Teil 2
Urban und Schwarzenberg, München-
Berlin (1963)
36. QUEISSER, W. : Proliferation of an unspecific esterase
positive (monocytopoetic) cell system in
human bone marrow as observed from
nucleic acid synthesis
Klin. Wschr. 48, 1229 (1970)
37. QUEISSER, W. : Die Anwendung der kombinierten cytophoto-
metrisch-autoradiographischen Methodik
für die Untersuchung der Proliferation
normaler und gestörter hämapoetischer
Zellsysteme
Klin. Wschr. 51, 687 (1973)
38. RAFTOPOULOS, A.: Die alpha-Naphthylacetat-Esterase-Aktivität
im Knochenmarksausstrich bei Hepatitis
infectiosa und bei Coxackiepnemonie im
Vergleich zu hämatologisch Gesunden
Inaugural-Dissertation, Berlin (1975)
39. RESCHAD, H. u. V. SCHILLING: Über eine neue Leukämie
durch echte Übergangsformen (Splenocytenleukämie) und ihre Bedeutung für
die Selbständigkeit dieser Zellen
Münch. med. Wschr. 60, 1981 (1913)
40. ROHR, K. : Das menschliche Knochenmark
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1960)
41. ROZENSZAJN, L.: Acidphosphatase activity in normal
human blood and bone marrow cells as
demonstrated by azo dye method
Acta. hämat. (Basel) 30, 310 (1963)

42. RYDER, R.J.W. : Chronic monocytic leucemia
Blut 14, 47 (1966)
43. SACHS, L. : Statistische Methoden
Springer: Berlin (1976)
44. SCHARIOT, G. : Die cytochemische Reaktion der "unspezifischen" Esterase mit dem Substrat alpha-Naphthylacetat in der Knochenmarkkultur
Inaugural-Dissertation Berlin (1969)
45. SCHETTLER, G. : Innere Medizin
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1972)
46. SCHMALZL F. u. H. BRAUNSTEINER: Cytochemische Darstellung von Esteraseaktivitäten in Blut- und Knochenmarkzellen
Klin. Wschr. 46, 642 (1968)
47. SCHMALZL F. u. H. BRAUNSTEINER: Zur Cytochemie der Monocytenleukämie
Klin. Wschr. 46, 1185 (1968)
48. SCHRÖDER, K. : Über die cytochemische Darstellung und das Verhalten der alpha-Naphthylacetat-Esterase in menschlichen Blutzellen
Inaugural-Dissertation Freiburg (1960)
49. SCHÜMMELFEDER, N. : Probleme der Fermentcytochemie
Folia haemat. Frankfurt N.F.G., 117 (1961)
50. SEIFERT, D. : Die Wirkung von Serum bei infektiöser Mononukleose auf menschliches Knochenmark in vitro
Inaugural-Dissertation Berlin (1975)
51. UNDRITZ, E. : Hämatologische Tafeln
Sandoz, AG, Nürnberg, 2. Auflage (1972)
52. WACHSTEIN, M. u. G. WOLF: The histochemical demonstration of esterase activity in human blood and bone marrow smears
J. Histochem. Cytochem. 6, 457 (1958)
53. WINTROBE, M.M. : Principles of Internal Medicine, 6.ed.,
Mc Graw-Hill Book Company, New York (1970)
54. WINTROBE, M.M. : Clinical Hematology, 7. ed.,
Lea and Febiger, Philadelphia (1974)

Frau Professor Dr. med. I. Boll danke ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 03. August 1949 wurde ich in Berlin als Sohn des Arztes Dr. Hans Karl und seiner Ehefrau Ruth Karl, geb. Hellebrandt, geboren.

Die Grundschule und das Gymnasium besuchte ich in Berlin, wo ich am 12.01.1970 die Reifeprüfung ablegte.

Im Oktober 1970 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin. Dort bestand ich am 17. August 1971 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 28. März 1973 die zahnärztliche Vorprüfung und am 16. Februar 1976 das Staatsexamen.

Seit zweieinhalb Jahren arbeite ich in der freien Praxis als Assistenzzahnarzt.

